

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
22 septembre 2005 (22.09.2005)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2005/087786 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
C07H 17/07, A61K 7/48

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2005/000596

(22) Date de dépôt international : 11 mars 2005 (11.03.2005)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0402554 11 mars 2004 (11.03.2004) FR

(71) Déposants et

(72) Inventeurs : **PROST, Michel** [FR/FR]; 15, route de
Quéigny, F-21560 Couternon (FR). **RAGOT, Jacque-**
line [FR/FR]; 9, rue Jean Bart, F-31400 Toulouse (FR).
TUBERY, Pierre [FR/FR]; 586, route de la Fougousse,
F-31600 Lamasquère (FR).

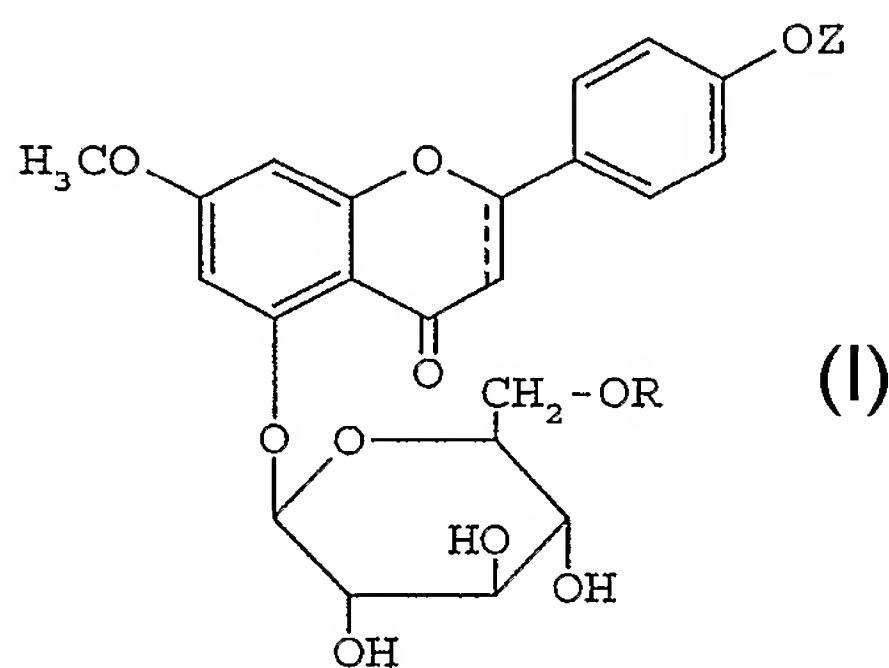
(74) Mandataire : **CLISCI, Serge**; S.A. Fedit-Loriot et Autres,
38, avenue Hoche, F-75008 Paris (FR).

(81) États désignés (*sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible*) : AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO,
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,
KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG,
MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH,
PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM,

[Suite sur la page suivante]

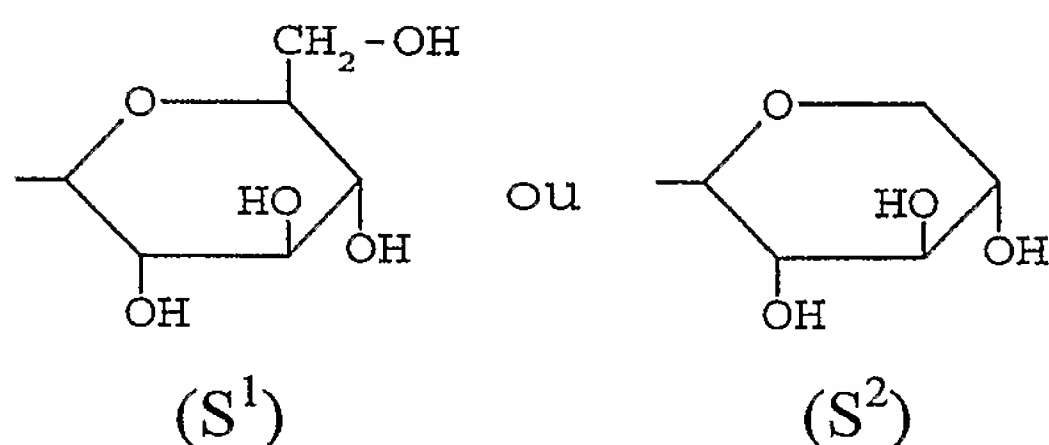
(54) Title: DERIVATIVES OF GENKWANIN AND SAKURANETIN, COSMETIC AND THERAPEUTIC USE THEREOF AND
PREPARATION METHOD OF SAME

(54) Titre : DERIVES DE GENKWANINE ET SAKURANETINE, UTILISATION COSMETIQUE ET THERAPEUTIQUE, ET
PROCEDE DE PREPARATION



(I)

--- (II)



(S¹)

(S²)

(57) Abstract: The invention relates to: (i) the use of osyl
derivatives of genkwanin and sakuranetin having formula (I)
in (a) cosmetics or dermatology and (b) therapeutics; (ii)
the use of novel derivatives having formula (I) as industrial
products; and (iii) the production method thereof [Formula
(I)], wherein symbol [Formula (II)] represents a single or
double bond, R represents H or an osyl residue, particularly
with structure S¹ or S² [Formula (III)], Z represents H, an
alkyl group at C₁-C₄, acyl at C₁-C₅, monosaccharide or sul-
phate.

(57) Abrégé : La présente invention concerne (i) l'utilisa-
tion en cosmétique ou dermatologie, d'une part, et en théra-
peutique, d'autre part, des dérivés osylés de genkwanine et
sakuranétine de formule (I) ci-après, (ii) des nouveaux déri-
vés de formule (I) en tant que produits industriels, et (iii) leur
procédé de fabrication : Formule (I) dans laquelle, le sym-
bole Formule (II) représente une simple ou une double liai-
son, R représente H ou un reste osyle, notamment de struc-
ture S¹ ou S² : Formule (III), Z représente H, un groupe al-
kyle en C₁-C₄, acyle en C₁-C₅, ose ou sulfate.

WO 2005/087786 A1



TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(84) États désignés (*sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible*) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO,

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

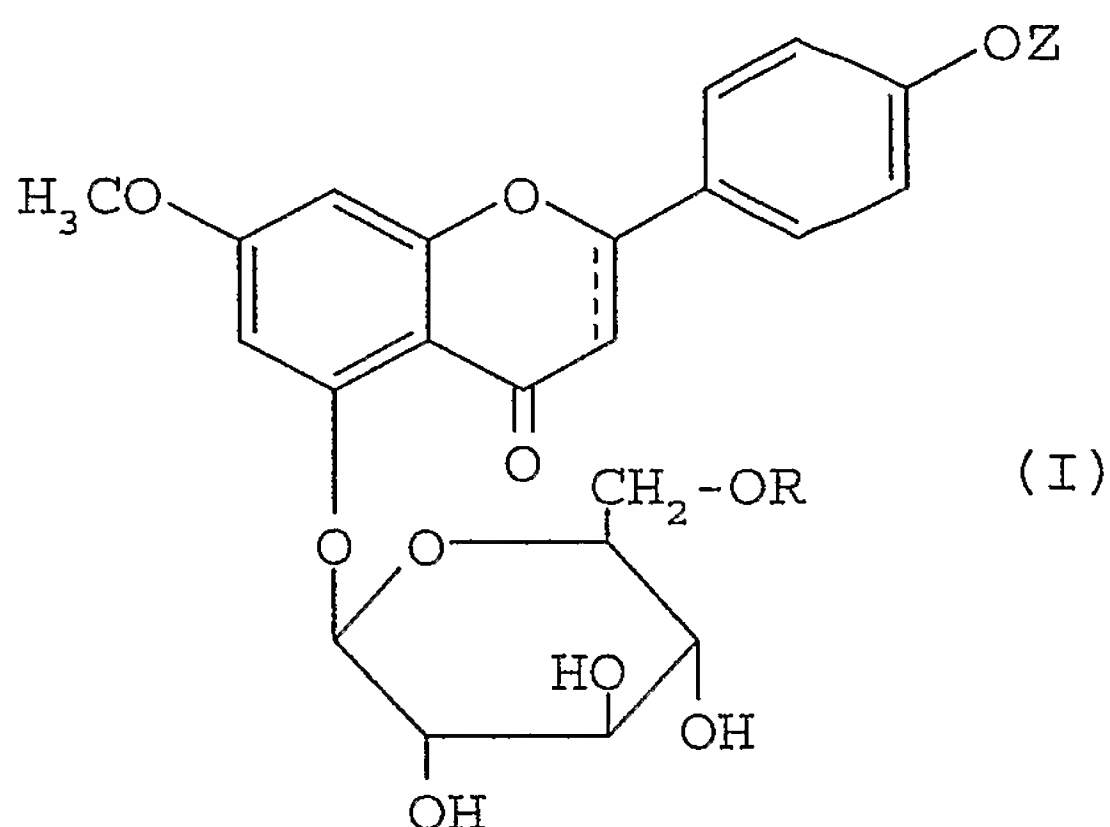
**DERIVES DE GENKWANINE ET SAKURANETINE, UTILISATION
COSMETIQUE ET THERAPEUTIQUE, ET PROCEDE DE
PREPARATION**

5

Domaine de l'invention

La présente invention a trait à des dérivés osylés de genkwanine et sakuranétine. Plus précisément, elle concerne (i) l'utilisation en cosmétique ou dermatologie, d'une part, et en thérapeutique, d'autre part, des dérivés osylés de genkwanine et sakuranétine de formule I ci-après, (ii) des nouveaux dérivés de formule I en tant que produits industriels, et (iii) leur procédé de fabrication.

Les composés selon l'invention répondent à la formule I :

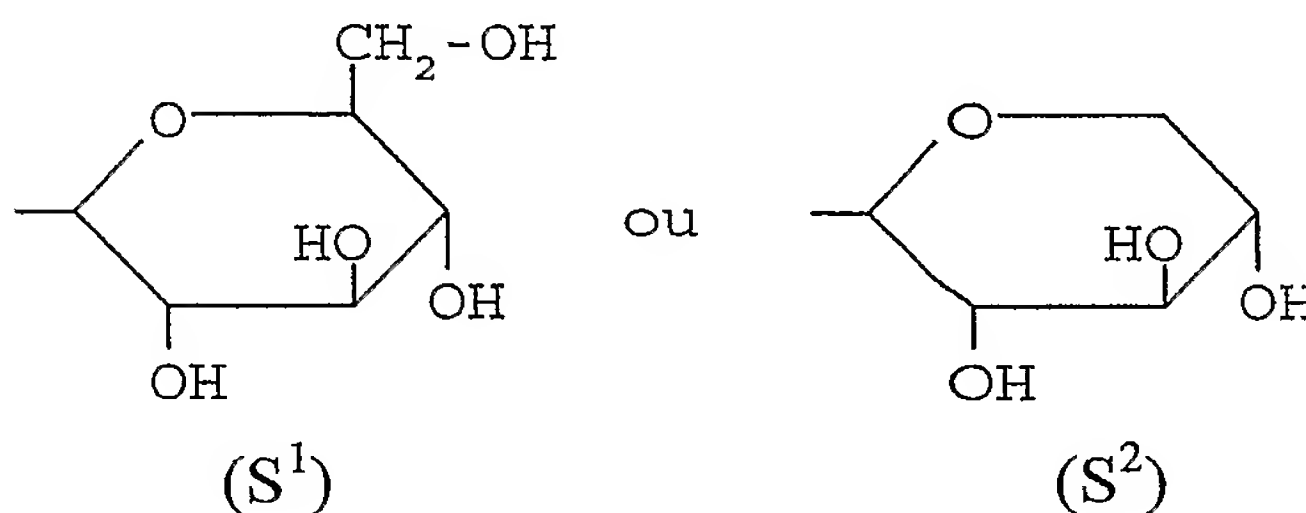


15

dans laquelle,

le symbole \equiv représente une simple ou une double liaison,

R représente H ou un reste osyle, notamment de structure S¹ ou S² :



20

Z représente H, un groupe alkyle en C₁-C₄, acyle en C₁-C₅, ose ou sulfate.

Art antérieur

On sait que quelques produits de formule I ont déjà été décrits et étudiés dans le passé. En particulier la 5-O- β -D-primevérosyl-genkwanine (qui est un composé de formule I où le symbole \equiv représente une double
5 liaison, R est un reste osyle de structure S², et Z est H) est obtenue par extraction de *Gnidia kraussiana* (une plante de la savane africaine de la famille des thyméléacées) et possède des propriétés immunitaires (notamment immunostimulantes), anticancéreuses et antileucémiques. Plus précisément, lors de désordres immunitaires graves, les lymphoblastes
10 physiologiques sont en hyperplasie, et l'intérêt de la 5-O- β -D-primevérosyl-genkwanine réside dans le fait qu'elle détruit les lymphoblastes formés. Voir à cet effet FR 2510580 A, FR 2597751 A et l'article de Jer-Huei LIN *et al.*, *Yaowu Shipin Fenxi*, 2001;9(1),6-11.

Le pinostrobin-5-glucoside (qui est un composé de formule I où le
15 symbole \equiv représente une double liaison, R est H, et Z est H) a été isolé de l'écorce de *Prunus cerasus* et est considéré comme étant caractéristique de l'espèce *Prunus cerasus*. Voir à cet effet l'article de Martin GEIBEL *et al.*, *Phytochemistry*, 1991;30(5),1519-1521.

La sakuranine, autre nomenclature : sakuranétine-5-glucoside, (qui
20 est un composé de formule I où le symbole \equiv représente une simple liaison, R est H, et Z est H), a été isolée de *Prunus yedoensis* sans que ses éventuelles propriétés cosmétiques ou pharmacologiques (notamment les propriétés antiradicalaires) aient été étudiées. Voir à cet effet l'ouvrage *Merck Index*, 12th Edition, 1996, Monograph No. 8470, pages 1431-1432.

25 L'art antérieur précité ne décrit ni ne suggère que les composés de formule I selon l'invention présentent des propriétés bénéfiques :

- en cosmétique ou dermatopharmacie, en tant que substances améliorant la texture de la peau, et
- en thérapeutique humaine ou vétérinaire (notamment les animaux à
30 sang chaud), en tant que substances antiradicalaires.

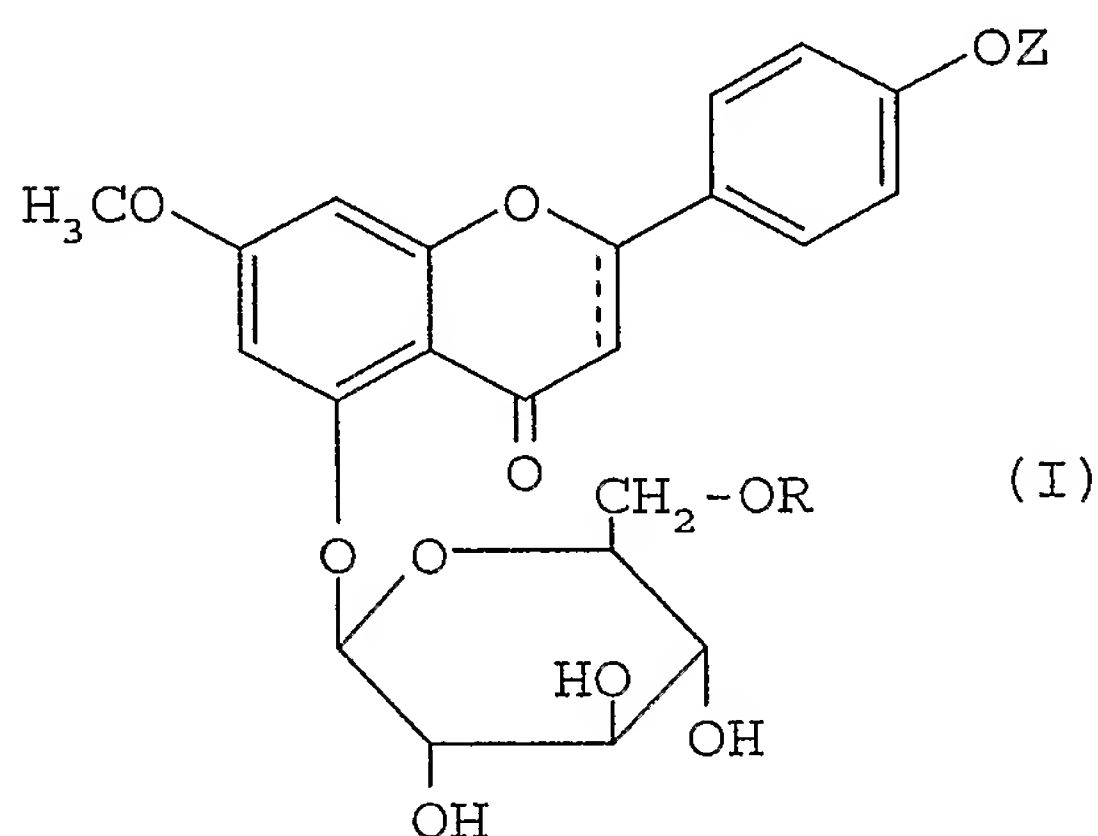
Objet de l'invention

Selon un premier aspect de l'invention, on préconise une nouvelle utilisation de dérivés osylés de genkwanine et sakuranétine, en tant que substances (a) cosmétiques ou dermatologiques, ou (b) antiradicalaires,

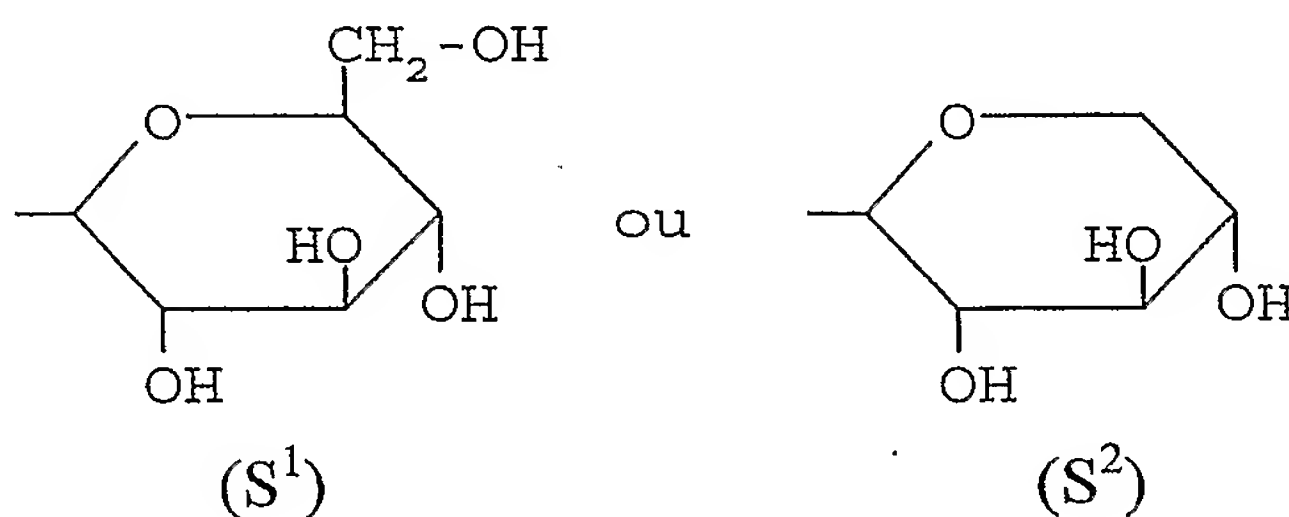
pour (a) améliorer la texture de la peau ou, respectivement, (b) traiter ou prévenir les désordres provoqués par les radicaux libres.

Dans cette optique, on fournit une nouvelle utilisation (a) en cosmétique ou dermatologie, d'une part, ou (b) en thérapeutique humaine ou vétérinaire, d'autre part, ladite utilisation étant caractérisée en ce que l'on fait appel à une substance choisie parmi l'ensemble constitué par

(i) les dérivés osylés de genkwanine ou sakuranétine de formule I :



dans laquelle,
le symbole --- représente une simple ou une double liaison,
R représente H ou un reste osyle, notamment de structure S¹ ou S² :



Z représente H, un groupe alkyle en C₁-C₄, acyle en C₁-C₅, ose ou sulfate, et

(ii) leurs mélanges,
en tant qu'ingrédient actif (a) cosmétique ou dermatologique, ou, respectivement, (b) antiradicalaire, pour l'obtention (a) d'une préparation cosmétique ou dermatologique pour améliorer la texture de la peau ou,

respectivement (b) d'un médicament destiné à un usage en thérapeutique vis-à-vis des désordres provoqués par les radicaux libres.

Selon un second aspect de l'invention, on préconise, en tant que produits industriels nouveaux, des composés de formule I où R est
5 notamment un reste ose de structure S¹ et leurs mélanges.

Selon un troisième aspect de l'invention, on préconise un procédé pour la préparation des composés de formule I et en particulier pour celle desdits nouveaux composés.

Brève description des dessins

10 Les figures annexées concernent une partie des résultats des essais qui ont été entrepris avec des produits de formule I :

- la figure 1 montre que les produits de formule I testés ont des propriétés antiradicalaires, et
- les figures 2 et 3 montrent que les produits de formule I testés
15 présentent un intérêt en tant qu'agents immunosuppresseurs.

Description détaillée de l'invention

La présente invention englobe des dérivés osylés de genkwanine quand le symbole \equiv représente une double liaison, d'une part, et des dérivés osylés de sakuranétine quand ledit symbole \equiv représente une
20 simple liaison, d'autre part.

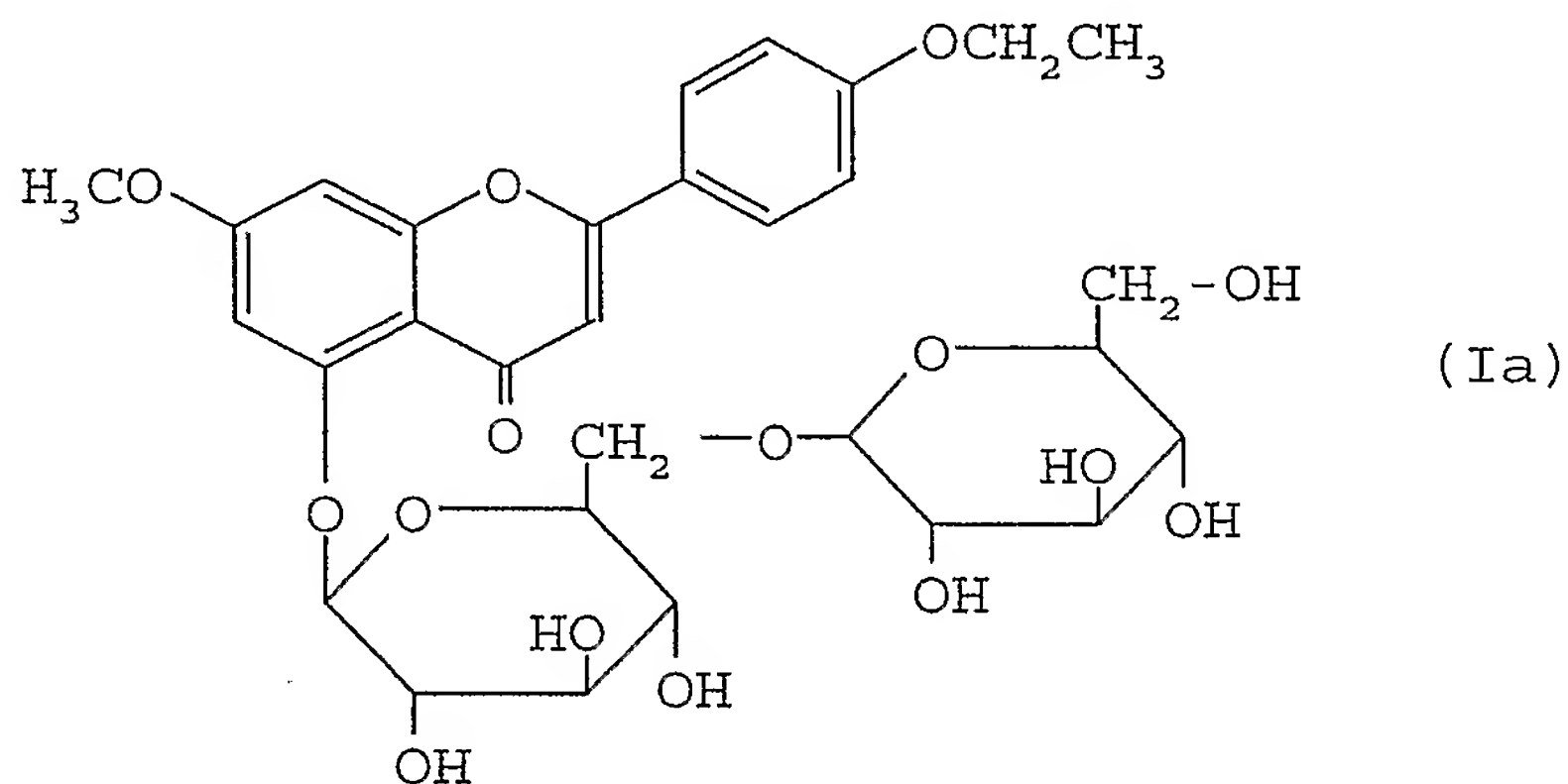
Dans la définition de Z, les groupe alkyle en C₁-C₄ comprennent des groupes à chaîne hydrocarbonée linéaire ou ramifiée, à savoir les groupes méthyle, éthyle, n-propyle, i-propyle, n-butyle, sec.-butyle et tert.-butyle ; les groupes acyle en C₁-C₅ comprennent les groupes aliphatiques à chaîne
25 hydrocarbonée linéaire ou ramifiée ayant de 1 à 5 atomes de carbone, à savoir les groupes CH₃CO, CH₃CH₂CO, CH₃CH₂CH₂CO, (CH₃)₂CHCO, CH₃CH₂CH₂CH₂CO, (CH₃)₂CHCH₂CO, CH₃CH₂CH(CH₃)CO et (CH₃)₃CCO ; le groupe sulfate comprend le reste SO₃⁻ que l'on rencontre principalement sous la forme acide SO₃H et, le cas échéant, sous une forme
30 salifiée telle que SO₃NH₄ ou SO₃Na. Enfin le groupe Z peut représenter un reste osyle, notamment un reste glucosyle, xylosyle, thioxylosyle, fructosyle, mannosyle, etc.

Le groupe osyle, qui intervient dans la définition de R, peut être un reste ose quelconque, notamment un des restes énumérés plus haut pour le

groupe pour Z. Avantageusement, les groupes R selon l'invention seront de structure S^1 ou S^2 , la structure S^1 étant la préférée.

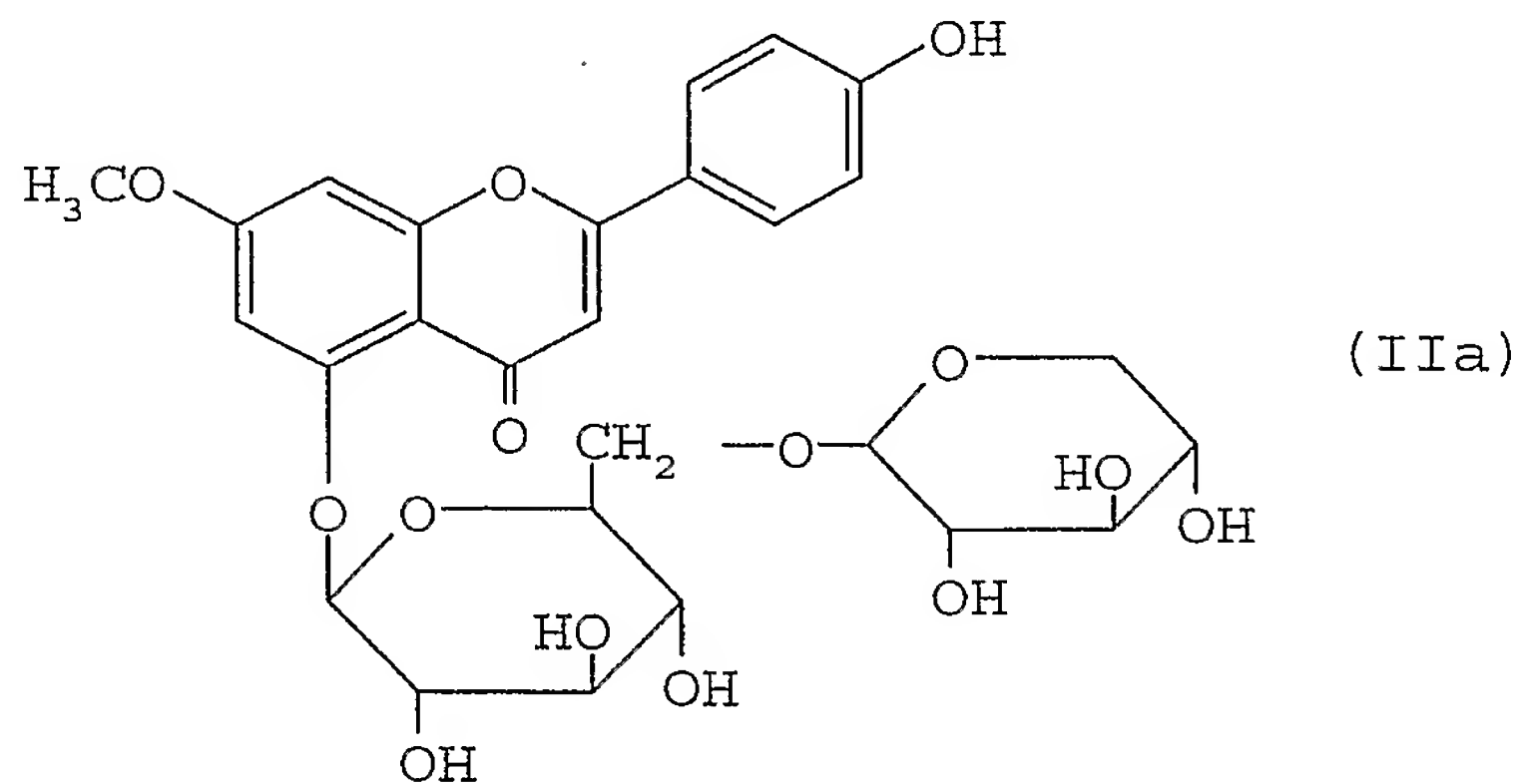
Parmi les composés de formule I conformes à l'invention, l'on peut avantageusement citer :

- 5 • la 5-[O-6-(D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]oxy-2-(4-éthoxyphényl)-7-méthoxy-4H-1-benzopyran-4-one [autre nomenclature : 4'-éthoxy-genkwanine-5-(D-glucosido)- β -D-glucoside] de formule Ia :

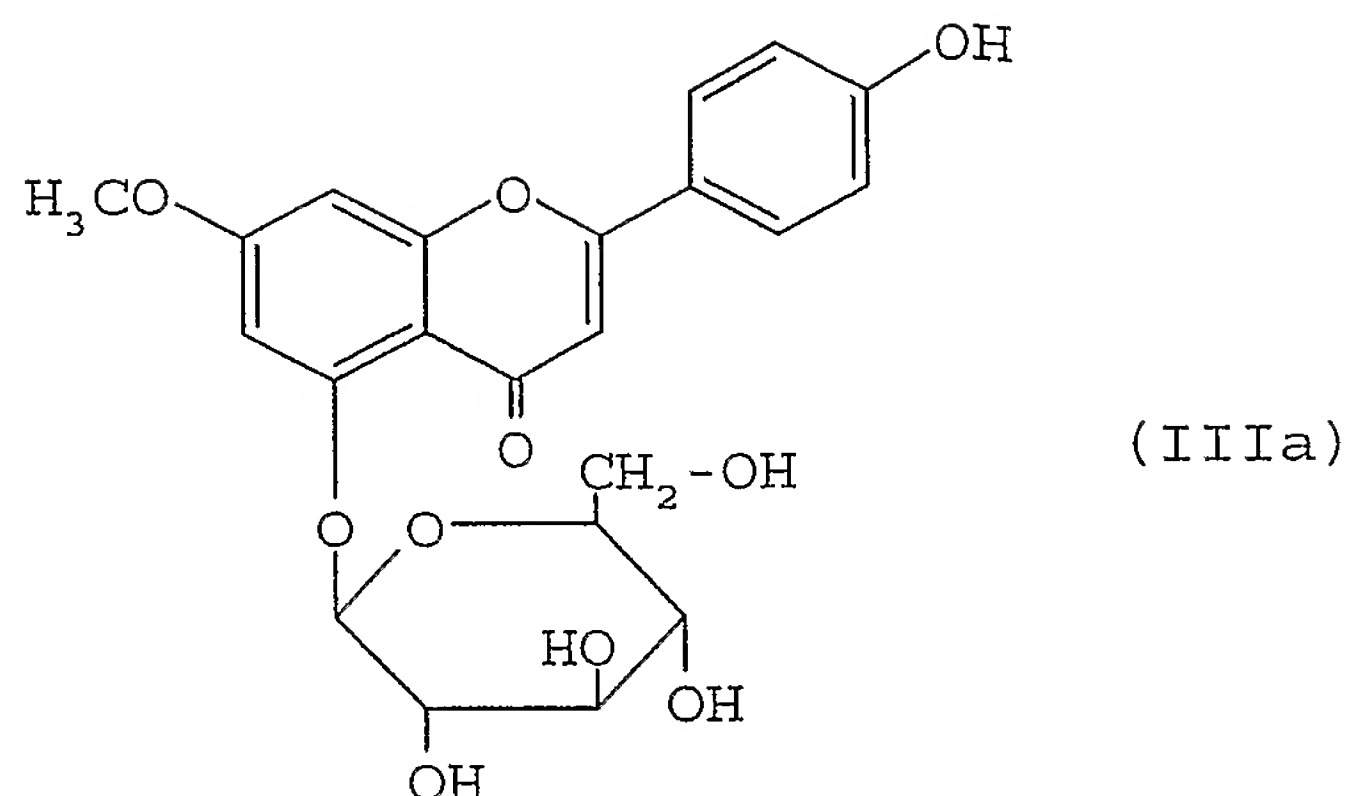


10 qui est le produit le plus intéressant de l'invention ;

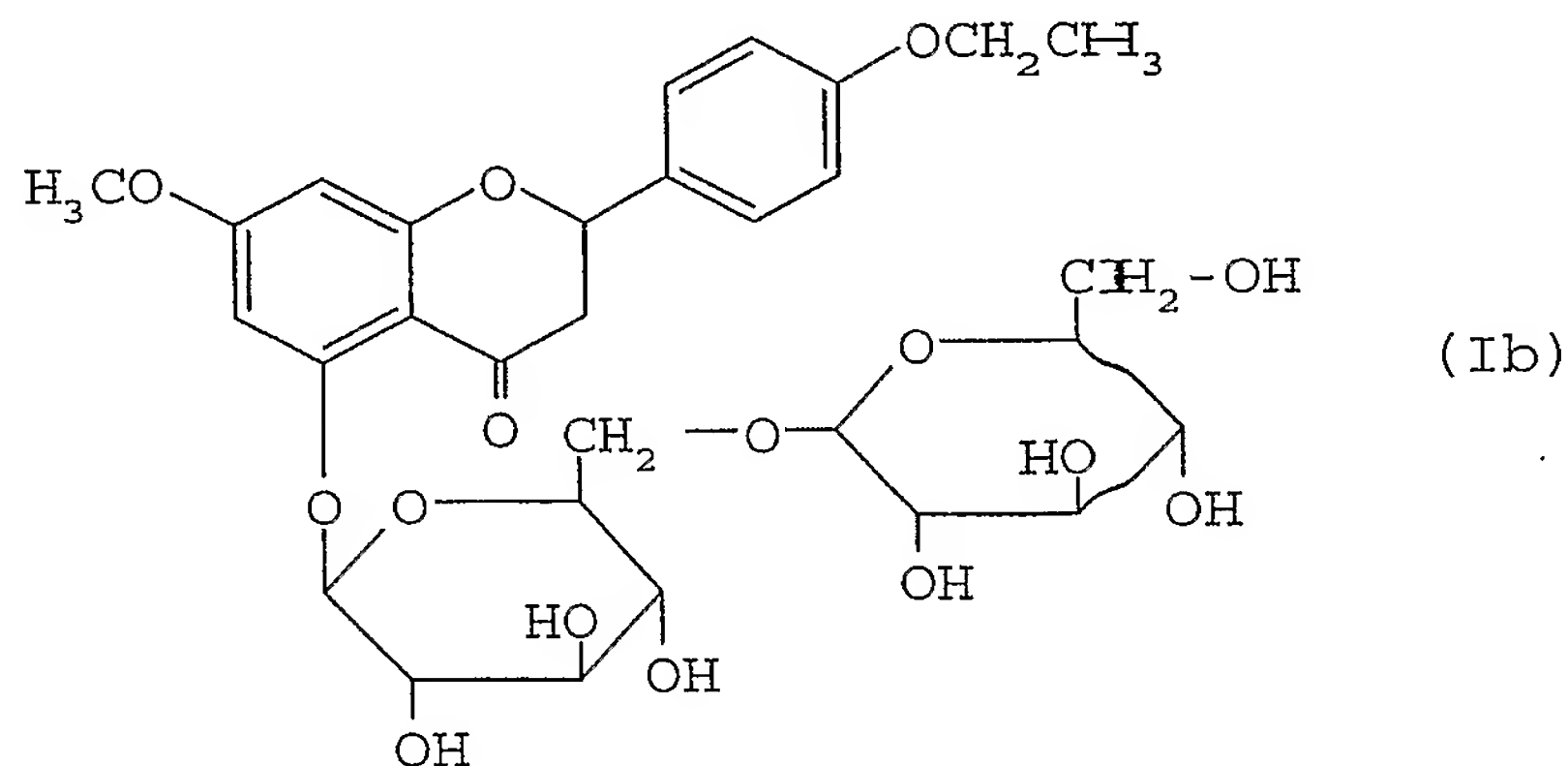
- la 5-O- β -D-primevérosyl-genkwanine précitée de formule IIa :



- le pinostrobin-5-glucoside précité de formule IIIa :

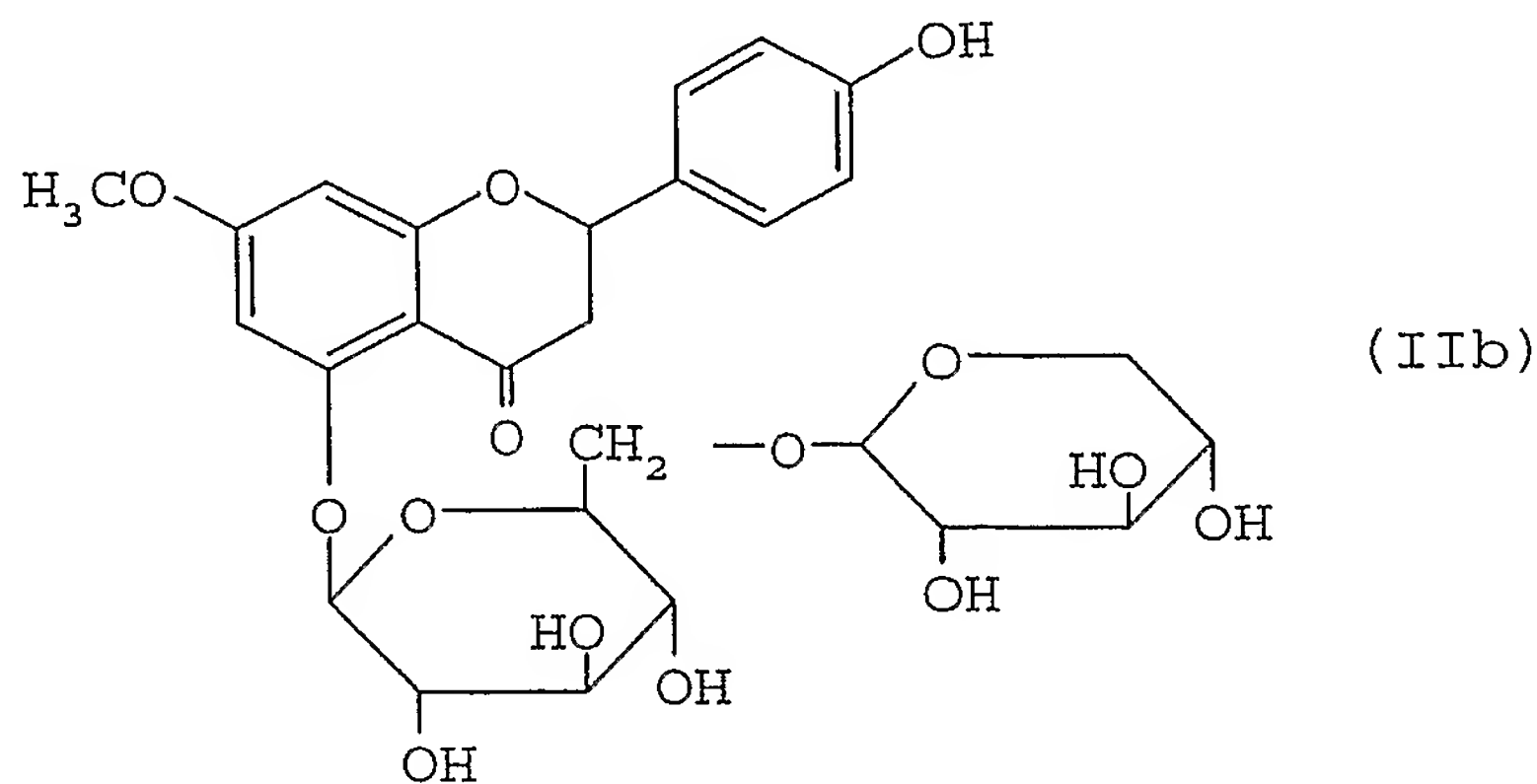


- la 2,3-dihydro-5-[O-6-(D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]oxy-2-(4-éthoxyphényl)-7-méthoxy-4H-1-benzopyran-4-one [autre nomenclature :
 5 4'-éthoxysakuranétine-5-(D-glucosido)- β -D-glucoside de formule Ib :



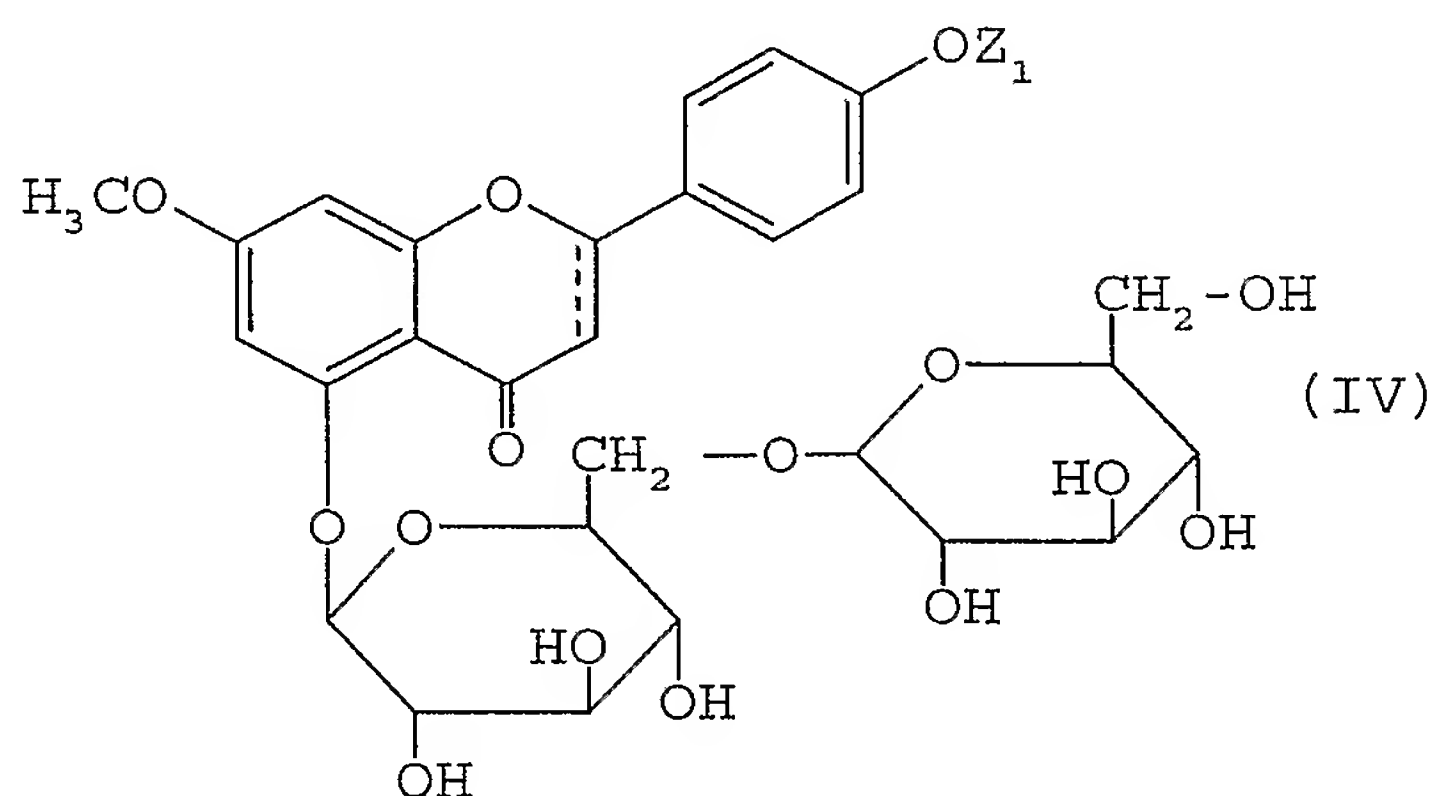
qui est l'homologue du produit de formule Ia eu égard au remplacement de la genkwanine par la sakuranétine,

- 10 • la 5-O- β -D-primevérosyl-sakuranétine de formule IIb :



et leurs dérivés où Z est un groupe sulfate (de préférence SO_3H , ou le cas échéant SO_3Na voire SO_3NH_4).

Parmi les composés nouveaux selon l'invention, l'on peut citer plus particulièrement les produits de formule IV :



dans laquelle symbole \equiv représente une simple ou une double liaison et Z_1 a la même définition que Z ci-dessus et représente avantageusement un groupe alkyle en $\text{C}_1\text{-C}_4$ (de préférence le groupe éthyle) ou sulfate (de préférence le groupe SO_3H).

Les composés de formule I peuvent être préparés selon une méthode connue en soi par application de mécanismes réactionnels et/ou processus d'extraction classiques. A titre d'exemple : (i) on extrait la genkwanine, la sakuranétine ou un de leurs osides à partir d'une plante appropriée appartenant à l'ensemble des *Prunus*, *Gnidia* et *Daphne* ; (ii) on osyle en position 5 l'aglycone avec un ose approprié (si nécessaire après blocage de la fonction OH en position 4' si celle-ci n'est pas protégée), et/ou (iii) on éthérifie (notamment au moyen d'un iodure d'alkyle pour ne pas affecter les groupes OH de la portion sucre), estérifie ou sulfate le groupe 4'-OH de l'oside extrait ou préparé comme indiqué ci-dessus (si nécessaire après déprotection du groupe 4'-OH).

Le procédé, que l'on recommande selon l'invention pour préparer le composé de formule Ia, est caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant à :

- 25
- (1°) extraire les racines broyées de *Daphne gnidium* avec CH_2Cl_2 ,
 - (2°) filtrer pour écarter la solution de chlorure de méthylène, ainsi obtenue, et recueillir le résidu solide que l'on sèche ;
 - (3°) extraire ledit résidu solide sec, ainsi obtenu, avec CH_3OH ;

- (4°) filtrer pour recueillir la solution méthanolique, ainsi obtenue, et écarter le résidu solide résultant ;
- (5°) évaporer à sec la solution méthanolique, ainsi recueillie, sous vide, à une température inférieure ou égale à 60 °C, pour obtenir un résidu solide ;
- (6°) laver le résidu solide, ainsi obtenu à l'étape (5°), avec de l'eau à une température inférieure ou égale à 60 °C sous agitation, et laisser refroidir ;
- (7°) éliminer l'eau de lavage puis reprendre le résidu solide avec CH₃OH ;
- (8°) reproduire 3 à 7 fois le cycle des opérations des étapes (5°) à (7°) jusqu'à ce que la dernière eau de lavage soit jaune pâle et limpide ;
- (9°) reprendre le résidu sec résultant avec un mélange méthanol-eau 25/2 p/p selon une quantité appropriée pour obtenir un liquide ayant une densité de 0,885 g/mL ;
- (10°) laisser reposer ledit liquide à 2-4 °C, de préférence à 3 °C, pendant au moins 2 jours, de préférence pendant 3 jours, et recueillir le précipité formé ;
- (11°) laver ledit précipité avec successivement du méthanol puis des mélanges méthanol-éther ayant des teneurs croissantes en éther, jusqu'à ce que le surnageant soit incolore ;
- (12°) filtrer le précipité, ainsi obtenu, et le laver plusieurs fois à l'éther, jusqu'à ce que l'éther de lavage soit incolore ;
- (13°) filtrer et sécher le produit solide résultant qui est constitué d'un mélange des produits de formules Ia, IIa et IIIa ; et,
- (14°) si nécessaire, séparer ledit mélange pour recueillir le produit de formule Ia.

De façon pratique, l'extraction de l'étape (1°) est menée à chaud (i. e. à une température de 30-35 °C sous pression atmosphérique ($\approx 10^5$ Pa) ou, le cas échéant, à une température plus élevée sous pression réduite) pendant 3-6 jours (de préférence pendant 5 jours) dans un appareil de type Kumagawa ; l'extraction de l'étape (3°) est effectuée à chaud (notamment à une température de 45-55 °C sous pression normale ($\approx 10^5$ Pa) ou, le cas

échéant, à une température plus élevée sous pression réduite) dans le même appareil pendant 3-6 jours (de préférence pendant 5 jours).

Eu égard aux modalités préférentielles sus-visées, on obtient à l'issue de l'étape (13°) un mélange Ia/IIa/IIIa selon un rapport pondéral d'environ
5 10/85/5 p/p.

En fonction des purifications entreprises par chromatographie, on obtient à l'issue de l'étape (14°) :

- un mélange Ia/IIa enrichi en Ia, notamment le mélange Ia/IIa 80/20 p/p, ou
- 10 • le composé de formule Ia essentiellement pur (i. e. ayant une pureté supérieure ou égale à 98 %) ou plus purifié (i. e. ayant une pureté supérieure ou égale à 99,5 %).

Les composés de formule I, et en particulier les composés nouveaux de formule IV, sont utiles en cosmétique ou dermatopharmacie en tant
15 qu'agents améliorant la texture de la peau.

Administrés par voie topique, sous forme d'une solution, d'une lotion, d'un gel ou d'une émulsion le cas échéant multiple (par exemple une émulsion H/L/H ou L/H/L), les composés de formule I ou IV ont :

- une action favorable sur les effets du vieillissement de la peau,
20 notamment pour réduire les rides et assurer la fermeté et la souplesse souhaitées pour la peau ;
- un effet anti-age permettant d'éviter l'injection de collagène ; et,
- un pouvoir de contrôle de l'hydratation de la peau.

En particulier, comme les composés de formule I ou, respectivement, IV s'hydratent aisément en $I \cdot xH_2O$ ou, respectivement, $IV \cdot xH_2O$ (où x est un nombre entier ou fractionnaire compris notamment entre 0,3 et 5), ils servent, selon l'invention, dans l'épaisseur de la peau en tant que régulateurs d'hydratation, soit en captant l'eau en excès, soit surtout en apportant de l'eau quand la teneur en eau dans la peau est insuffisante.

30 Outre l'aspect cosmétique ou dermatologique précité, les composés de formule I ou IV sont utiles en thérapeutique humaine et vétérinaire en raison de leurs propriétés antiradicalaires pour traiter et surtout prévenir les désordres induits par les radicaux libres.

Lesdits désordres comprennent en particulier les pathologies induites
35 par une hyperproduction ou une production non contrôlée de radicaux libres

dans l'organisme, telles que les maladies myélodégénératives, le syndrome maniaco-dépressif, et la démence sénile. Les composés de formules I ou IV sont surtout intéressants en thérapeutique humaine avant que ces pathologies ne deviennent irréversibles

5 Par ailleurs, tous les composés de formule IV, qui ont été testés en vue de leurs propriétés immunomodulatrices, antiathéromateuses et anticancéreuses, se sont révélés efficaces. La substance préférée selon l'invention, qui est constituée par le produit de formule Ia ou les mélanges Ia/IIa/IIIa (i. e. extrait de *Daphne gnidium*) et Ia/IIa précités, est
10 particulièrement active vis-à-vis de certains cancers et leucémies aiguës (effet antiblastique, i. e. destruction des leucoblastes), et de la leucémie myéloïde chronique.

Selon l'invention, l'on préconise une composition cosmétique (a), dermatopharmaceutique (b) ou thérapeutique (c), qui est caractérisée en ce
15 que :

- (a) la composition cosmétique renferme, en association avec un excipient physiologiquement acceptable par voie topique, au moins un composé de formule I ;
- (b) la composition dermatopharmaceutique renferme, en association
20 avec un excipient physiologiquement acceptable notamment par voie topique, au moins un composé de formule I ; ou,
- (c) la composition thérapeutique renferme, en association avec un excipient physiologiquement acceptable notamment par voie orale ou injectable, au moins un composé de formule IV en tant
25 qu'ingrédient actif immunomodulateur, notamment vis-à-vis de poussées récentes de sclérose en plaque, ou anticancéreux, notamment vis-à-vis de la leucémie myéloïde chronique.

D'autres avantages et caractéristiques de l'invention seront mieux compris à la lecture qui va suivre d'exemples de préparation et de résultats
30 d'essais cosmétologiques et pharmacologiques. Bien entendu, l'ensemble de ces éléments n'est nullement limitatif mais est fourni à titre d'illustration.

Exemples

Quelques composés typiques de formule I ont été consignés dans le tableau I ci-après avec des produits de comparaison (CP.1 et CP.2).

Tableau I
Composés typiques selon l'invention

Exemple	Structure
Ex. 1	mélange Ia/IIa/IIIa 10/85/5 p/p
Ex. 2	produit de formule IIa
Ex. 3	produit de formule IIIa
Ex. 4	mélange Ia/IIa 80/20 p/p
Ex. 5	produit de formule Ib
Ex. 6	produit de formule IIb
Ex. 7	4'-sulfate du produit de formule Ib
Ex. 8	Produit de formule Ia
Ex. 9	4'-sulfate du produit de formule Ia
Ex. 10	mélange Ib/IIa/IIIa 10/85/5 p/p
CP.1	genkwanine
CP.2	sakuranétine

5 *Préparation A*

- Obtention du mélange Ia/IIa/IIIa 10/85/5 p/p (Ex. 1) -

11 kg de racines de *Daphne gnidium* (plante du bassin méditerranéen de la famille des thyméléacées) sont broyées puis traitées en continu avec du chlorure de méthylène, à 30-35 °C, pendant 5 jours dans un
 10 appareil de type Kumagawa. La solution liquide ainsi obtenue est écartée et on recueille le résidu solide que l'on sèche. On extrait ledit résidu, ainsi séché, avec du méthanol à chaud (45-55 °C) pendant 5 jours dans ledit
 15 appareil de type Kumagawa. L'extrait méthanolique, obtenu après avoir écarté le résidu solide, est traité de la façon suivante : évaporation à sec sous pression réduite à une température inférieure à 60 °C dans un ballon ;
 lavage du résidu solide, ainsi obtenu, à l'eau chaude en agitant de façon à décoller ledit résidu du fond du ballon ; refroidissement à la température
 20 ambiante et élimination de l'eau de lavage ; et reprise du résidu dans du méthanol. Cette succession de traitements est reproduite de 5 à 7 fois, selon l'origine des racines, jusqu'à ce que la dernière eau de lavage soit limpide et de couleur jaune pâle. Le résidu résultant est repris à chaud (45-55 °C) avec du méthanol contenant 8 % en poids d'eau, en quantité suffisante pour

obtenir un liquide ayant une densité de 0,885 g/mL. On laisse reposer pendant 3 jours à 3 °C puis récupère le précipité formé par centrifugation. On lave ce précipité par fractions successives de méthanol puis de mélanges méthanol/diméthyl éther (ou méthanol/diéthyl éther) de plus en plus riches en éther. Quand le surnageant est enfin presque incolore, on filtre le précipité et le lave plusieurs fois à l'éther jusqu'à ce que l'éther de lavage soit incolore. On obtient un solide beige très clair que l'on sèche sous pression réduite puis qui est broyé.

Ce solide est un mélange Ia/IIa/IIIa dans un rapport pondéral de 10/85/5. Le rendement est de l'ordre de 2 à 3 % selon l'origine de la plante et la saison de la récolte des racines.

Analyse

Les composés de formules Ia, IIa et IIIa étant de structures proches (partie favonoïde et partie saccharidique) ont de fortes similarités spectroscopiques, en particulier en ultra-violet et en infra-rouge.

Spectre UV (dans mélange acétonitrile-eau 80/20 v/v)

On observe deux bandes d'absorption à 331,7 et 261,7 nanomètres (la bande à 261,7 nm ayant une intensité qui est d'environ la moitié de celle de la bande à 331,7 nm).

Spectres IR (en pastille de KBr)

On observe les bandes suivantes :

- bande intense à 3374 cm^{-1} (O-H de la partie sucre) ;
- bande intense à 1635 cm^{-1} (bande de vibration du carbonyle de la flavone) ;
- bande d'intensité moyenne à 1609 cm^{-1} (bande de vibration de la double liaison éthylénique de la flavone) ; et
- bandes d'intensité moyenne à 1450 et 1360 cm^{-1} (bandes de vibration des parties aromatiques).

Préparation B

- Obtention du mélange Ia/IIa 80/20 p/p (Ex. 4) -

En soumettant le produit de l'exemple 1 à une chromatographie séparative (HPLC), on obtient le mélange Ia/IIa 80/20 p/p.

Préparation C

- Obtention du produit de formule Ia (Ex. 8) -

En soumettant le produit de l'exemple 1 ou de l'exemple 4 à une chromatographie séparative plus poussée, on obtient le composé de formule Ia avec une pureté supérieure ou égale à 98 %, voire même avec une pureté supérieure ou égale à 99,5 %.

5 Analyse

On a déterminé les spectre de RMN (à 250 Mhz en solution dans du méthanol deutéré) et spectre de masse (par technique FAB). Les résultats obtenus sont les suivants, où la 1^{ère} unité sucre est celle qui est liée au squelette flavone et la 2^{ème} unité sucre est celle de structure S¹ ou S².

10 *Spectre RMN*

- triplet centré à 1,31 ppm (groupe méthyle CH₃ de la chaîne phénolique alkylée),
- quadruplet centré à 3,20 ppm (groupe méthylène CH₂ de ladite chaîne alkylée);
- 15 - massif de 3,27 à 4,39 ppm (protons des deux unités sucre) [attributions détaillées sur la base d'expériences COSY, HMQC et HMBC à 600 Mhz, dont les deux protons anomères des deux unités sucre, respectivement à 4,75 ppm (doublet) pour la 1^{ère} unité liée en position 5 à la flavone, et à 4,27 ppm (doublet) pour la 2^{ème} unité;
- 20 - pont -CH₂-O- entre les deux unités sucre à 3,60 (d) et 3,93 (d) ppm; et -CH₂- en 5 sur 2^{ème} unité sucre à 3,32 (d) et 3,60 (d) ppm; la stéréochimie dans les deux unités sucre ayant été établie sur la base des couplages proton-proton vicinaux en partant des protons anomères];
- 25 - 3,87 ppm (CH₃ du groupement CH₃-O-);
- 6,60 ppm (proton éthylénique de la partie flavone);
- massif 6,91-6,94 ppm (4 protons aromatiques); et
- massif 7,82-7,86 ppm (2 protons aromatiques).

Spectre de masse

30 Masse moléculaire : 636,598 (C₃₀H₃₆O₁₅)

Pic de masse : 636; adduits de Na et K conformes.

La méthode de spectrométrie de masse a été également utilisée pour confirmer les structures de formules Ia, IIa et IIIa après acétylation de tous les groupements O-H (par le mélange anhydride acétique/pyridine); il a été
35 procédé à l'analyse par spectrométrie de masse des produits d'acétylation

après purification chromatographique sur silice (éluant : eau/acétonitrile 50/50 v/v).

Préparation C bis

- Obtention des produits de formule IIa (Ex. 2) et de formule IIIa (Ex. 3) -

5 En soumettant le produit de l'exemple 1 à des chromatographies séparatives plus poussées, on a isolé les produits de formule IIa (Ex. 2) et de formule IIIa (Ex. 3) avec une pureté supérieure ou égale à 98 %.

Analyse (entreprise comme indiqué à la préparation C ci-dessus)

Spectre RMN de Ex. 2

10 Le spectre de RMN du produit de formule IIa (Ex. 2) est identique à celui du produit de formule Ia (Ex. 8) aux différences près suivantes :

- absence des signaux CH_3 à 1,31 ppm et CH_2 à 3,20 ppm de la chaîne éthyle ;
- disparition des signaux à 3,32 et 3,60 ppm du CH_2 en position 5 sur le

15 second sucre .

Spectre de masse de Ex. 2

Masse moléculaire : 578,519 ($\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$)

Pic de masse : 578 ; adduits de Na et K conformes.

Spectre RMN de Ex. 3

20 Le spectre de RMN du produit de formule IIIa (Ex. 3) est identique à celui du produit de formule Ia (Ex. 8) à la différence près suivantes :

- simplification du massif correspondant aux protons de la partie sucre avec un seul proton anomère à 4,76 ppm (d).

Spectre de masse de Ex. 3

25 Masse moléculaire : 446,404 ($\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$)

Pic de masse : 446 ; adduits de Na et K conformes.

Préparation D

- Obtention du produit de formule Ib (Ex.5) -

30 En reproduisant le procédé des Préparations A et C ci-dessus, à partir de l'écorce ou des racines de *Prunus yedoensis*, on obtient le composé de formule Ib.

Préparation E

- Obtention du 4'-sulfate du produit de formule Ib (Ex.7) -

35 Le produit attendu est obtenu par sulfatation du groupe 4'-OH selon une méthode connue en soi.

Essais F

La propriété d'améliorer la texture de la peau a été appréciée par le biais de la régénération du tissu cutané après brûlure.

On rase une portion du dos de rats mâles adultes et applique sur cette
5 portion une platine métallique de 0,5 cm² chauffée à une température de 130 °C pour créer une zone de brûlure calibrée. On applique un gel contenant 0 (lot témoin) ou 1,5 % en poids de produit de formule I (lots
traités) une fois par jour pendant 21 jours sur la brûlure des rats (8 animaux
par produit à tester, 10 animaux pour le lot témoin). On constate que, chez
10 les lots traités (Ex 1 à Ex 10), la régénération du tissu cutané est obtenue en 1 mois ; en revanche chez le lot témoin, ladite régénération intervient en 6 à 8 semaines

Essais G

L'étude des propriétés antiradicalaires des produits selon l'invention
15 (Ex. 1 à Ex. 10) a été entreprise selon le procédé de "*détermination du potentiel de défense antiradicalaire*", objet de la demande de brevet français No. 03 12 351 déposée le 22 octobre 2003, en suivant la cinétique de la lyse d'hématies (notamment des hématies de mouton ; il est également possible d'opérer sur sang total ou plasma sanguin) induite par des radicaux
20 libres générés *in situ*, en présence d'un produit selon l'invention à des doses croissantes de 0 mg/L (lot témoin) à 100 mg/L (lots traités), et avec hydrolyse du milieu réactionnel au moyen d'un mélange d'enzymes (β -glucosidase, sulfatase et β -glucuronidase). Selon ce procédé, on mesure en particulier le temps ($T_{1/2}$) qui correspond à la lyse de la moitié des cellules
25 concernées, ici les hématies, en fonction de la concentration (en mg/L) du produit de formule I à tester.

Une partie des résultats obtenus est consignée dans la figure 1 ci-après, dans laquelle la courbe 1 est celle du produit Ex. 1 ; la courbe 2, celle de Ex. 2 ; la courbe 3, celle de Ex. 3 ; et la courbe 4, celle de Ex. 4.

30 La figure 1 montre que Ex. 4 (i. e. le mélange Ia/IIa 80/20 p/p), qui contient le composé Ia (i. e. Ex. 8) "contaminé" par le composé IIa (i. e. Ex. 2), est plus actif en tant que substance antiradicalaire que Ex. 1, Ex. 2 et Ex. 3.

Essais H

Des essais complémentaires ont été réalisés avec Ex. 10 et ses constituants (Ex. 5, Ex. 2 et Ex. 3) sur des cellules sanguines humaines [fournies par EFS (Etablissements Français du Sang)].

Il s'agit de cellules sanguines isolées sur coussin de Ficoll et conservées sous vapeur d'azote liquide. Après décongélation, lesdites
5 cellules sont incubées pendant 24 h à 37 °C avant l'addition des produits de formule I à tester. Après nouvelle incubation à 37 °C pendant 24 h ou 48 h, les cellules sont analysées pour apprécier l'éventuelle expression de marqueurs membranaires significatifs, selon le tableau II qui suit.

10

Tableau II

Analyses du matériel cellulaire	Expression du marqueur membranaire
Lymphocytes T	CD3
Lymphocytes T cytotoxiques	CD8
Lymphocytes T "helper"	CD4
Lymphocytes B	CD19
Monocytes/macrophages	CD11c
Activations cellulaires	CD69
Surnageants cellulaires	IL-2

Comme indiqué dans le tableau II, les surnageants cellulaires ont été
15 analysés pour leur contenu en interleukine 2 (IL-2), produit induisant la prolifération des lymphocytes T, avec ou sans ajout d'un activateur notamment (i) la phyto-hématoglutinine (PHA), qui est un activateur classique, et (ii) un super antigène (SEB), qui induit une interaction entre les molécules de classe II des lymphocytes B avec les récepteurs des
20 lymphocytes T ou TRC mimant de ce fait une présentation d'antigène

On observe deux points majeurs, à savoir :

- (1) Ex. 10 et ses constituants, Ex. 5, Ex. 2 et Ex. 3, n'induisent pas la prolifération des cellules sanguines de la réponse immunitaire ; et
- (2) Ex. 10, Ex. 5, Ex. 2 et Ex. 3 sont actifs sur ces cellules et vont
25 interférer avec les cascades de signaux entraînant une réponse immunitaire ; l'effet observé semble être immunosuppresseur avec

une diminution de production d'anticorps pour les lymphocytes B, une diminution des MHC de classe II pour les cellules dendritiques et une inhibition de la production d'IL-2 (facteur induisant la prolifération lymphocytaire) suite à la stimulation par PHA ou SEB.

Les figures 2 et 3 montrent l'effet des produits Ex. 10, Ex. 5, Ex. 2 et Ex. 3 sur la sécrétion de IL-2 induite par PHA (figure 2) et, respectivement, par SEB (figure 3). En particulier la figure 3, d'une part, présente la production (exprimée en pg/mL) de IL-2 par rapport à la concentration (exprimée en pmol/mL) en SEB (courbe 11), SEB + Ex. 10 (courbe 12), SEB + Ex. 5 (courbe 13), SEB + Ex. 2 (courbe 14) et SEB + Ex. 3 (courbe 15) et, d'autre part, montre l'effet des produits Ex.10, Ex. 5, Ex. 2 et Ex. 3 sur la stimulation des cellules immunitaires.

En conclusion, les composés de formule IV, et notamment les produits des exemples 1, 4, 8, 9 et 10 sont particulièrement intéressants eu égard à :

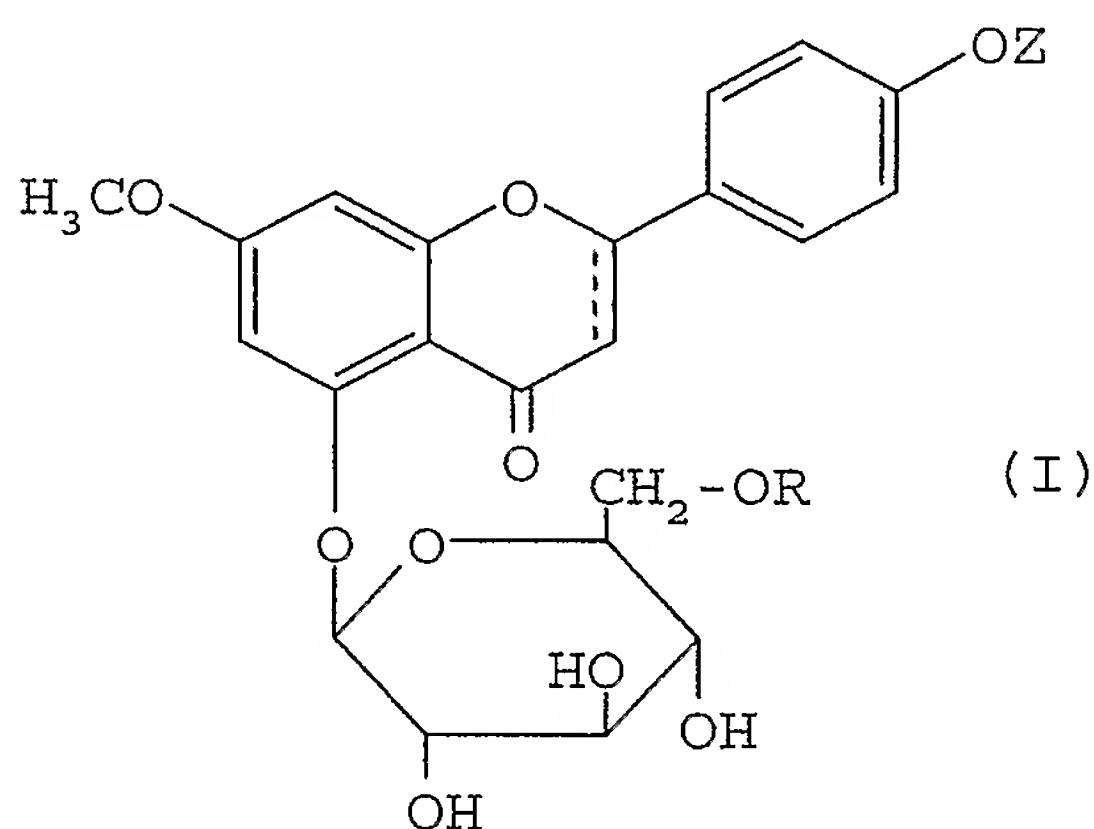
- leurs effets immunomodulateurs, notamment vis-à-vis de poussées récentes de sclérose en plaque ;
- leurs effets immunosuppresseurs, notamment illustrés par inhibition de l'activité des stimulants PHA et SEB sur la production de IL-2 ;
- leurs effets anti-blastiques (i.e. par destruction des leucoblastes) et qui sont utiles dans le traitement de la leucémie myéloïde chronique et des leucémies aiguës ;
- leurs effets contre certains cancers; et
- la quasi-absence d'effets secondaires néfastes quand ils sont administrés par voie topique, orale ou injectable.

Chez l'homme adulte, la posologie recommandée pour les produits de formule I, et de préférence les produits de formule IV, est de l'ordre de 50 mg/kg *per os*. Ces produits peuvent également être administrés par voie locale sous forme de gels, pommades; onguents ou lotions ; dans cette éventualité, la forme locale peut contenir de 1 à 5 % en poids de produit de formule I, de formule IV ou d'un de leurs mélanges par rapport au poids de ladite forme locale.

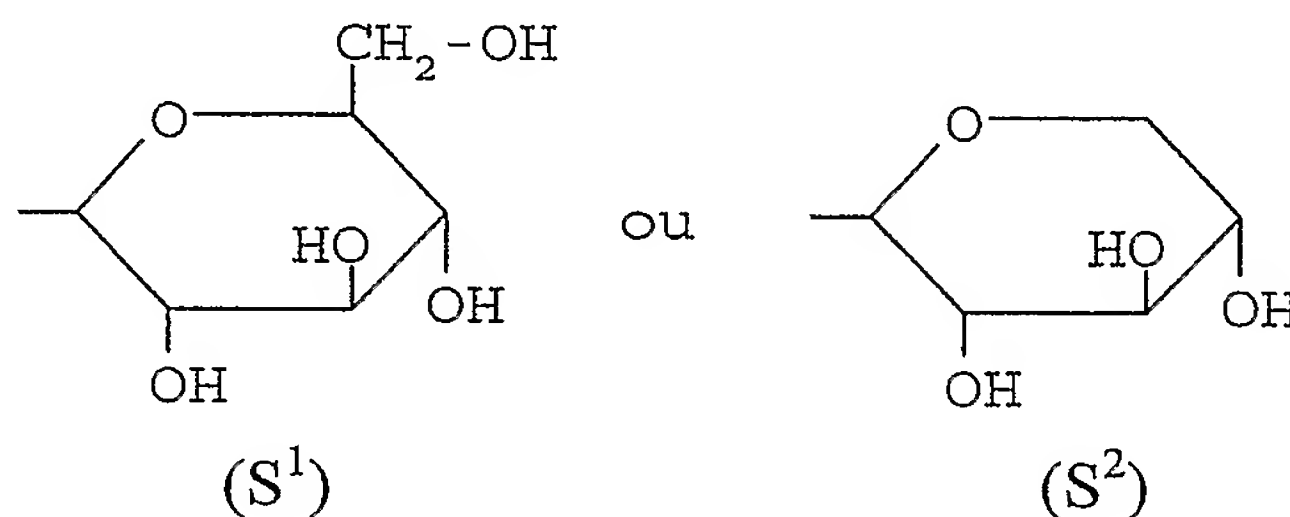
REVENDICATIONS

1. Utilisation d'un dérivé de genkwanine ou de sakuranétine, ladite
5 utilisation étant caractérisée en ce que l'on fait appel à une substance choisie parmi l'ensemble constitué par

(i) les dérivés osylés de genkwanine ou sakuranétine de formule I :



10 dans laquelle,
le symbole \equiv représente une simple ou une double liaison,
R représente H ou un reste osyle, notamment de structure S^1 ou S^2 :



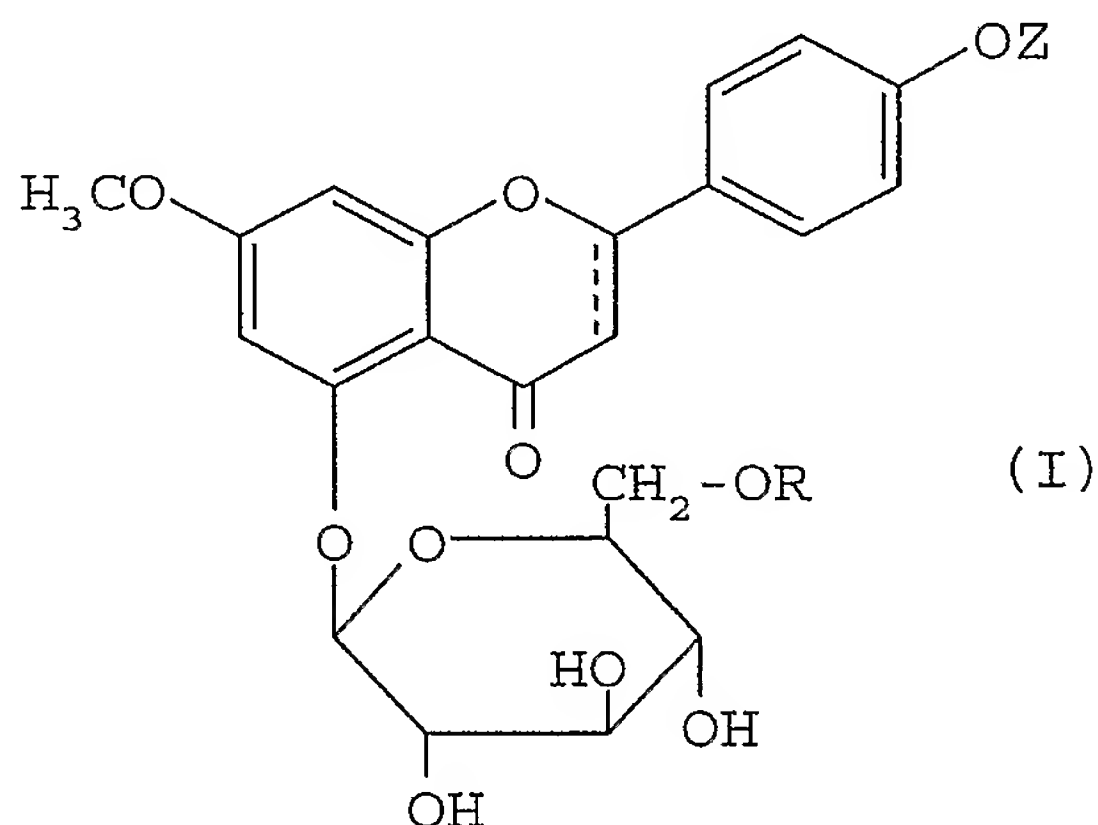
Z représente H, un groupe alkyle en C₁-C₄, acyle en C₁-C₅, ose ou sulfate, et

(ii) leurs mélanges,
20 en tant qu'ingrédient actif cosmétique ou dermatologique pour l'obtention d'une préparation cosmétique ou dermatologique pour améliorer la texture de la peau.

2. Utilisation d'un dérivé de genkwanine ou de sakuranétine, ladite utilisation étant caractérisée en ce que l'on fait appel à une substance choisie parmi l'ensemble constitué par

(i) les dérivés osylés de genkwanine ou sakuranétine de formule I :

5

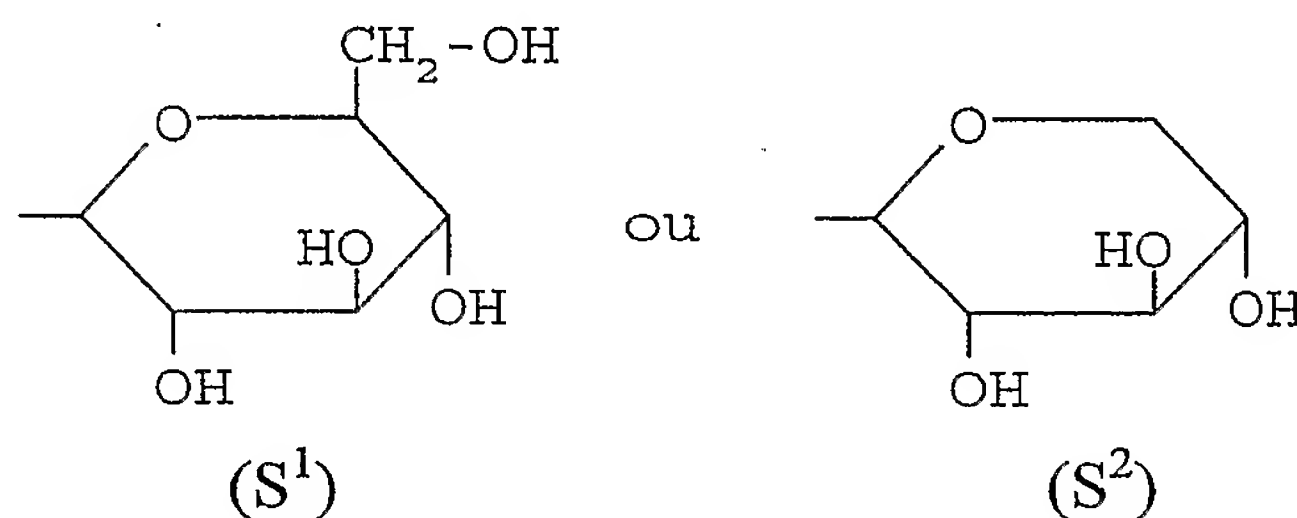


dans laquelle,

le symbole \equiv représente une simple ou une double liaison,

R représente H ou un reste osyle, notamment de structure S¹ ou S² :

10



15

Z représente H, un groupe alkyle en C₁-C₄, acyle en C₁-C₅, ose ou sulfate, et

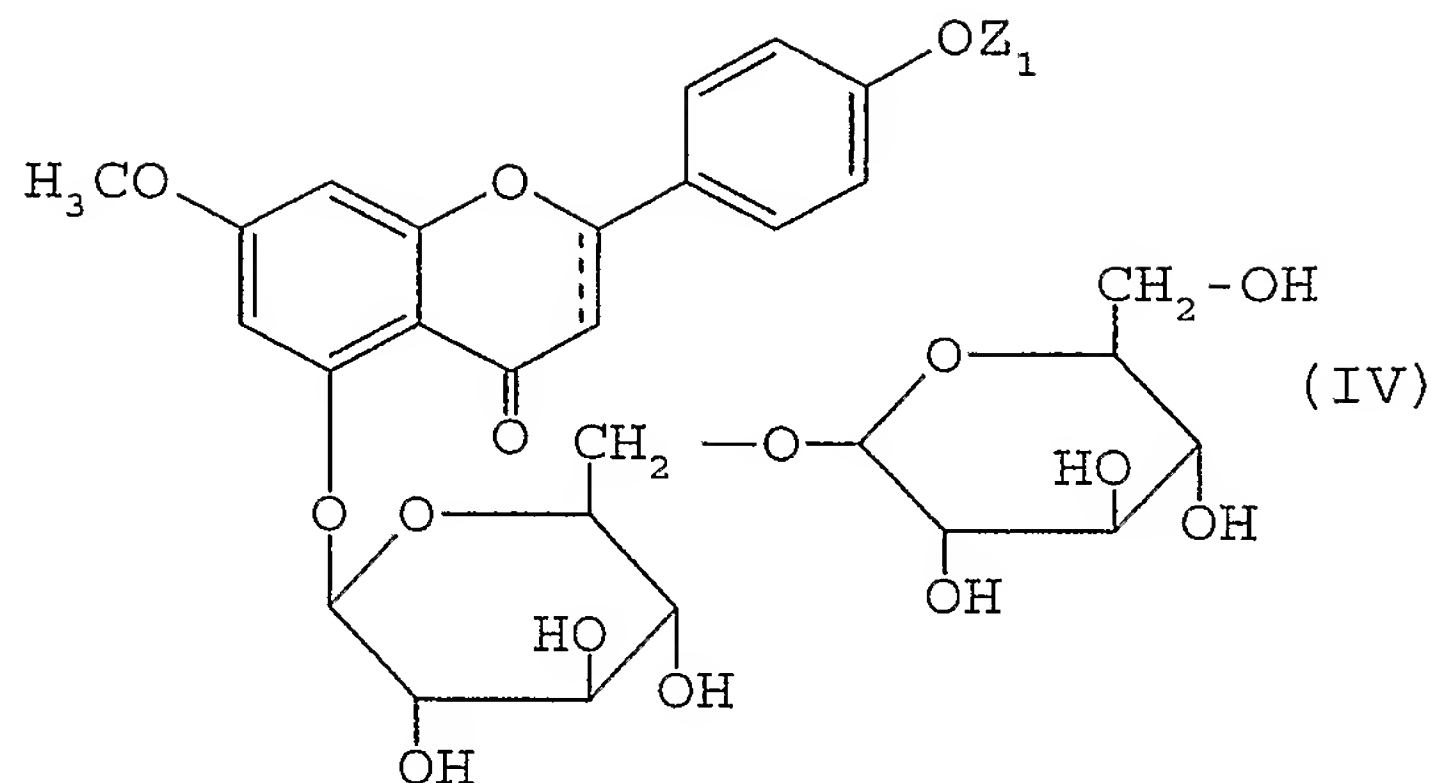
(ii) leurs mélanges,

en tant qu'ingrédient actif antiradicalaire pour l'obtention d'un médicament destiné à un usage en thérapeutique vis-à-vis des désordres provoqués par les radicaux libres.

20

3. Utilisation suivant la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que ladite substance est choisie parmi l'ensemble constitué par

- les composés de formule IV :

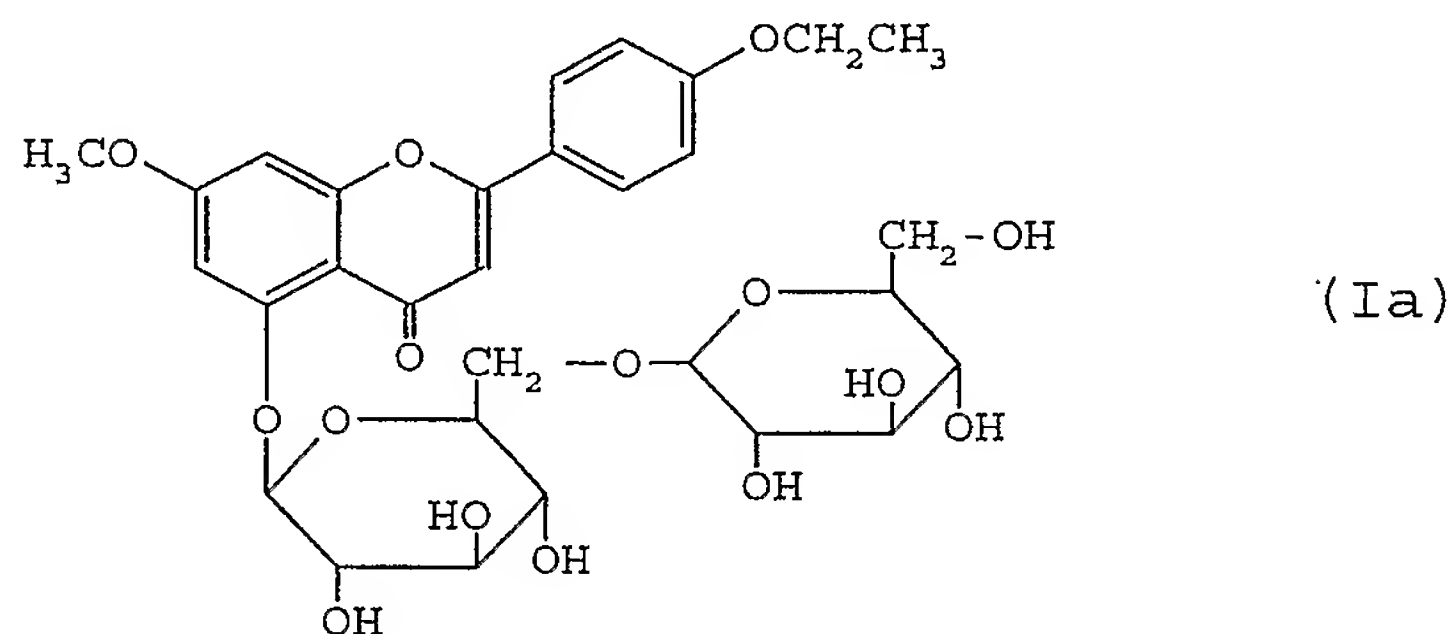


dans laquelle symbole \equiv représente une simple ou une double liaison et Z_1 représente H, un groupe alkyle en C_1-C_4 , acyle en C_1-C_5 , ose ou sulfate et est avantageusement un groupe alkyle en C_1-C_4 (de préférence le groupe éthyle) ou sulfate (de préférence le groupe SO_3H), et

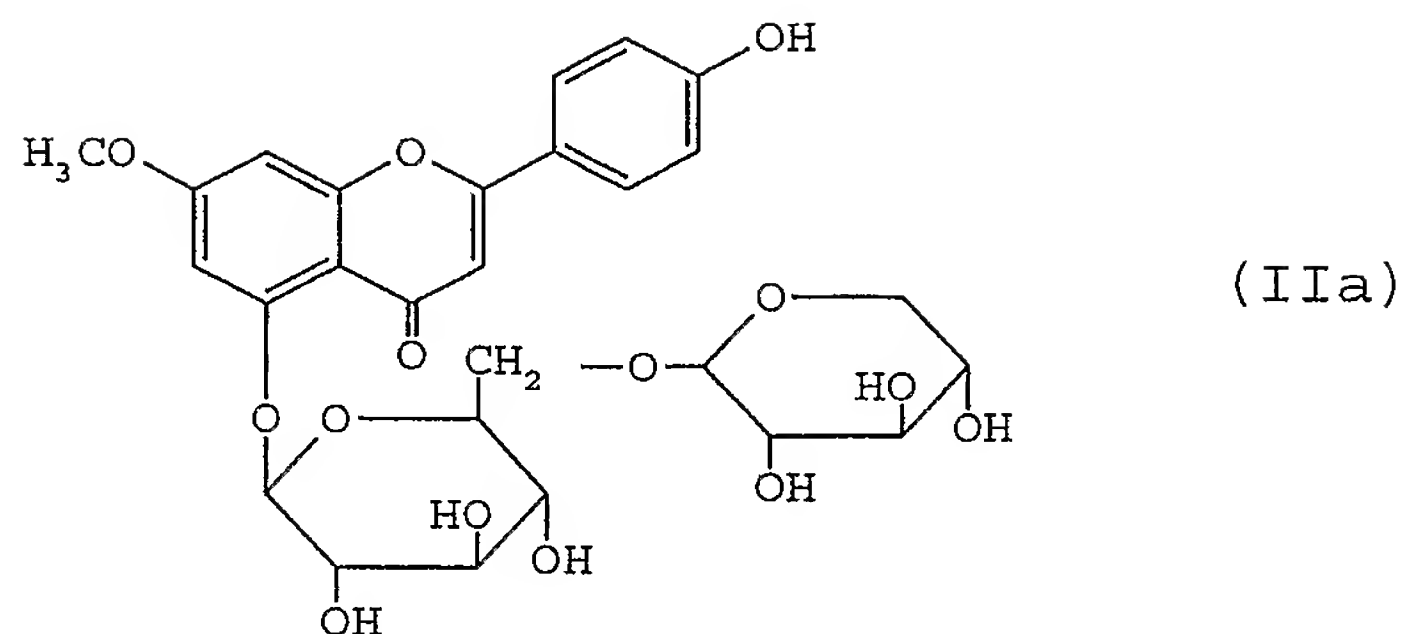
- leurs mélanges.

4. Utilisation suivant la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que ladite substance est choisie parmi l'ensemble constitué par :

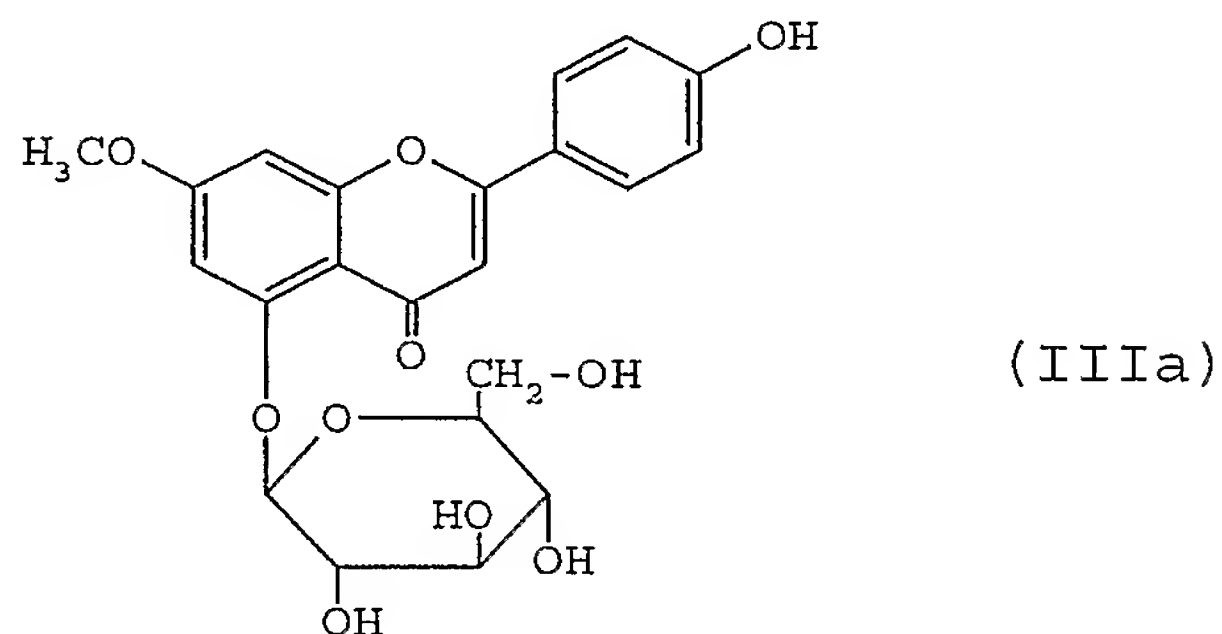
- 10 • la 5-[O-6-(D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]oxy-2-(4-éthoxyphényl)-7-méthoxy-4H-1-benzopyran-4-one de formule Ia :



- 15 • la 5-O- β -D-primevérosyl-genkwanine de formule IIa :



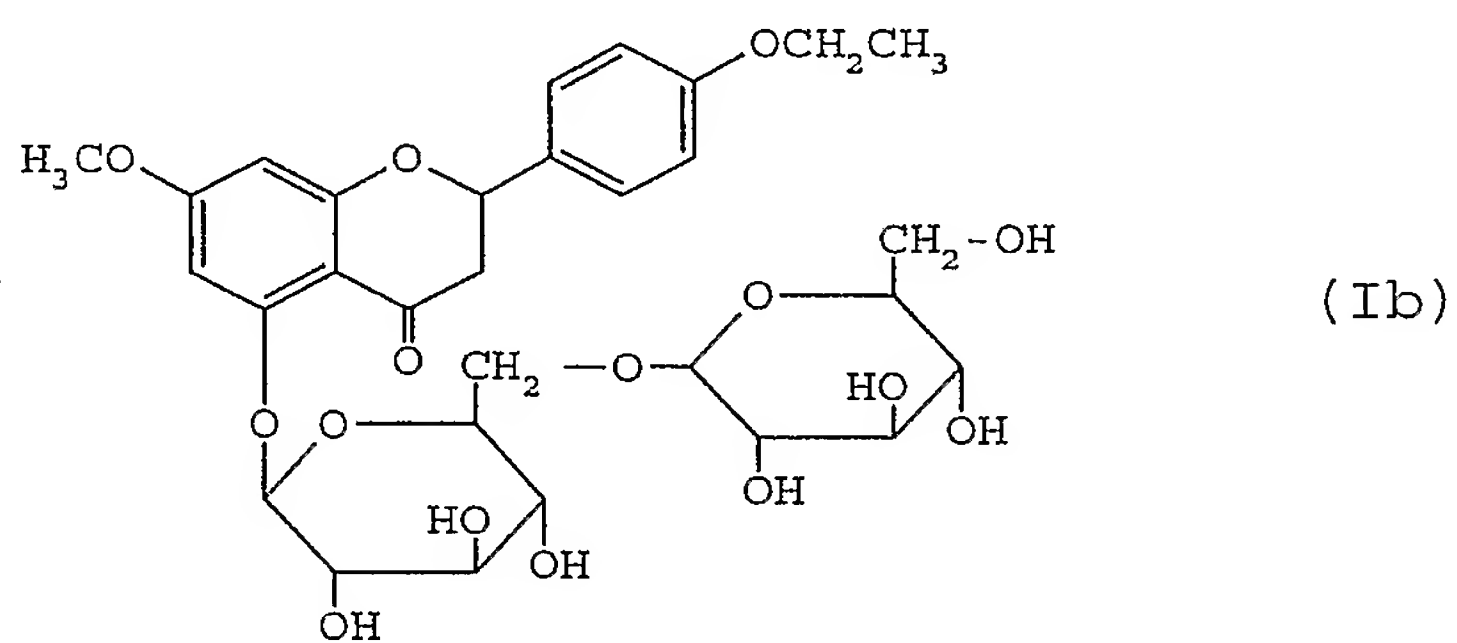
- le pinostrobin-5-glucoside de formule IIIa :



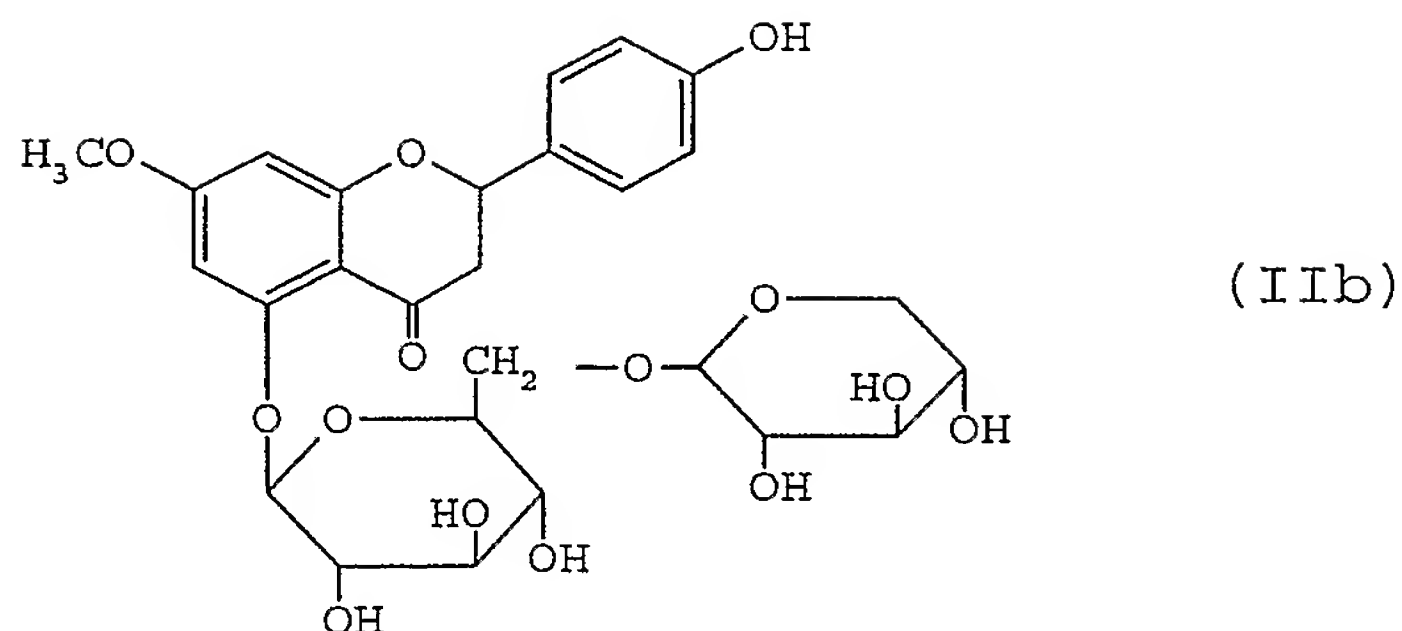
5

- la 2,3-dihydro-5-[O-6-(D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl]oxy-2-(4-éthoxyphényl)-7-méthoxy-4H-1-benzopyran-4-one de formule Ib :

10

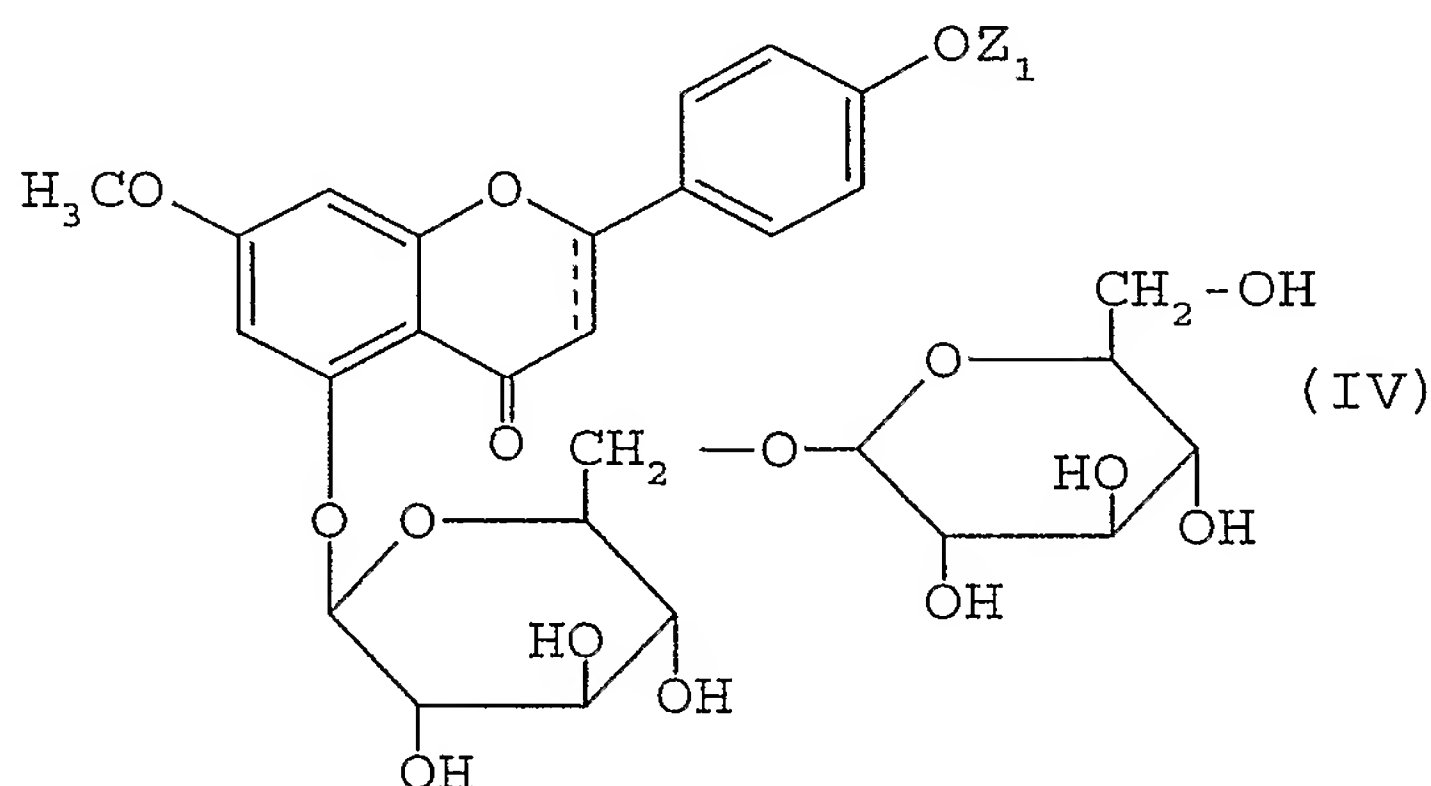


- la 5-O-β-D-primevérosyl-sakuranétine de formule IIb :



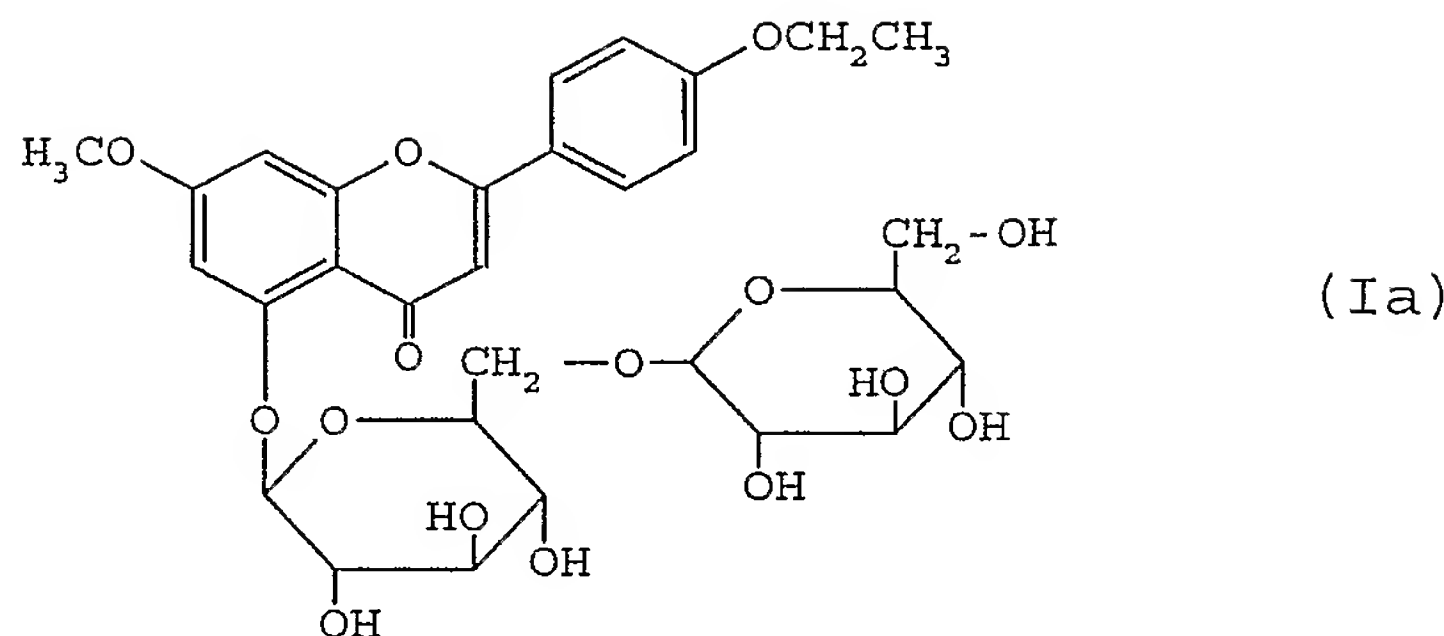
- leurs dérivés où Z est un groupe sulfate (de préférence SO_3H , ou le cas échéant SO_3Na voire SO_3NH_4), et
 - 5 • leurs mélanges.
5. Dérivé osylé de genkwanine ou de sakuranétine, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi l'ensemble constitué par
- les composés répondant à la formule générale IV :

10



dans laquelle symbole --- représente une simple ou une double liaison et Z_1 représente H, un groupe alkyle en $\text{C}_1\text{-C}_4$, acyle en $\text{C}_1\text{-C}_5$, ose ou sulfate et est avantageusement un groupe alkyle en $\text{C}_1\text{-C}_4$ (de préférence le groupe éthyle) ou sulfate (de préférence le groupe SO_3H); et,

- leurs mélanges.
6. Dérivé osylé de genkwanine suivant la revendication 5, caractérisé en ce que ledit est un composé répondant à la formule Ia :



7. Procédé pour la préparation d'un composé de formule I selon la revendication 1 ou 2, ledit procédé étant caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- (i) on extrait la genkwanine, la sakuranétine ou un de leurs osides à partir d'une plante appropriée appartenant à l'ensemble des *Prunus*, *Gnidia* et *Daphne* ;
- (ii) on osyle en position 5 l'aglycone avec un ose approprié (si nécessaire après blocage de la fonction OH en position 4' si celle-ci n'est pas protégée) ;
- (iii) on éthérifie (notamment au moyen d'un iodure d'alkyle pour ne pas affecter les groupes OH de la portion sucre), estérifie ou sulfate le groupe 4'-OH de l'oside extrait ou préparé comme indiqué ci-dessus (si nécessaire après déprotection du groupe 4'-OH).

8. Procédé suivant la revendication 7, pour la préparation du composé de formule Ia selon la revendication 4 ou 6, ledit procédé étant caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant à :

- (1°) extraire les racines broyées de *Daphne gnidium* avec CH₂Cl₂,
- (2°) filtrer pour écarter la solution de chlorure de méthylène, ainsi obtenue, et recueillir le résidu solide que l'on sèche ;
- (3°) extraire ledit résidu solide sec, ainsi obtenu, avec CH₃OH ;
- (4°) filtrer pour recueillir la solution méthanolique, ainsi obtenue, et écarter le résidu solide résultant ;
- (5°) évaporer à sec la solution méthanolique, ainsi recueillie, sous vide, à une température inférieure ou égale à 60 °C, pour obtenir un résidu solide ;

- (6°) laver le résidu solide, ainsi obtenu à l'étape (5°), avec de l'eau à une température inférieure ou égale à 60 °C sous agitation, et laisser refroidir ;
- (7°) éliminer l'eau de lavage puis reprendre le résidu solide avec CH_3OH ;
- (8°) reproduire 3 à 7 fois le cycle des opérations des étapes (5°) à (7°) jusqu'à ce que la dernière eau de lavage soit jaune pâle et limpide ;
- (9°) reprendre le résidu sec résultant avec un mélange méthanol-eau 25/2 p/p selon une quantité appropriée pour obtenir un liquide ayant une densité de 0,885 g/mL ;
- (10°) laisser reposer ledit liquide à 2-4 °C, de préférence à 3 °C, pendant au moins 2 jours, de préférence pendant 3 jours, et recueillir le précipité formé ;
- (11°) laver ledit précipité avec successivement du méthanol puis des mélanges méthanol-éther ayant des teneurs croissantes en éther, jusqu'à ce que le surnageant soit incolore ;
- (12°) filtrer le précipité, ainsi obtenu, et le laver plusieurs fois à l'éther, jusqu'à ce que l'éther de lavage soit incolore ;
- (13°) filtrer et sécher le produit solide résultant qui est constitué d'un mélange des produits de formules Ia, IIa et IIIa ; et,
- (14°) si nécessaire, séparer ledit mélange pour recueillir le produit de formule Ia.

9. Procédé suivant la revendication 8, caractérisé en ce que l'extraction de l'étape (1°) est menée à une température de 30-35 °C sous pression atmosphérique ou, le cas échéant, à une température plus élevée sous pression réduite, pendant 3-6 jours, dans un appareil de type Kumagawa ; et en ce que l'extraction de l'étape (3°) est effectuée à une température de 45-55 °C, sous pression normale ou, le cas échéant, à une température plus élevée sous pression réduite, dans le même dit appareil, pendant 3-6 jours.

10. Composition cosmétique (a), dermatopharmaceutique (b) ou thérapeutique (c), caractérisée en ce que :

- (a) la composition cosmétique renferme, en association avec un excipient physiologiquement acceptable par voie topique, au moins un composé de formule I ;

- (b) la composition dermatopharmaceutique renferme, en association avec un excipient physiologiquement acceptable notamment par voie topique, au moins un composé de formule I ; ou,
- 5 (c) la composition thérapeutique renferme, en association avec un excipient physiologiquement acceptable notamment par voie orale ou injectable, au moins un composé de formule IV en tant qu'ingrédient actif immunomodulateur, notamment vis-à-vis de poussées récentes de sclérose en plaque, ou anticancéreux, notamment vis-à-vis de la leucémie myéloïde chronique.

1/2

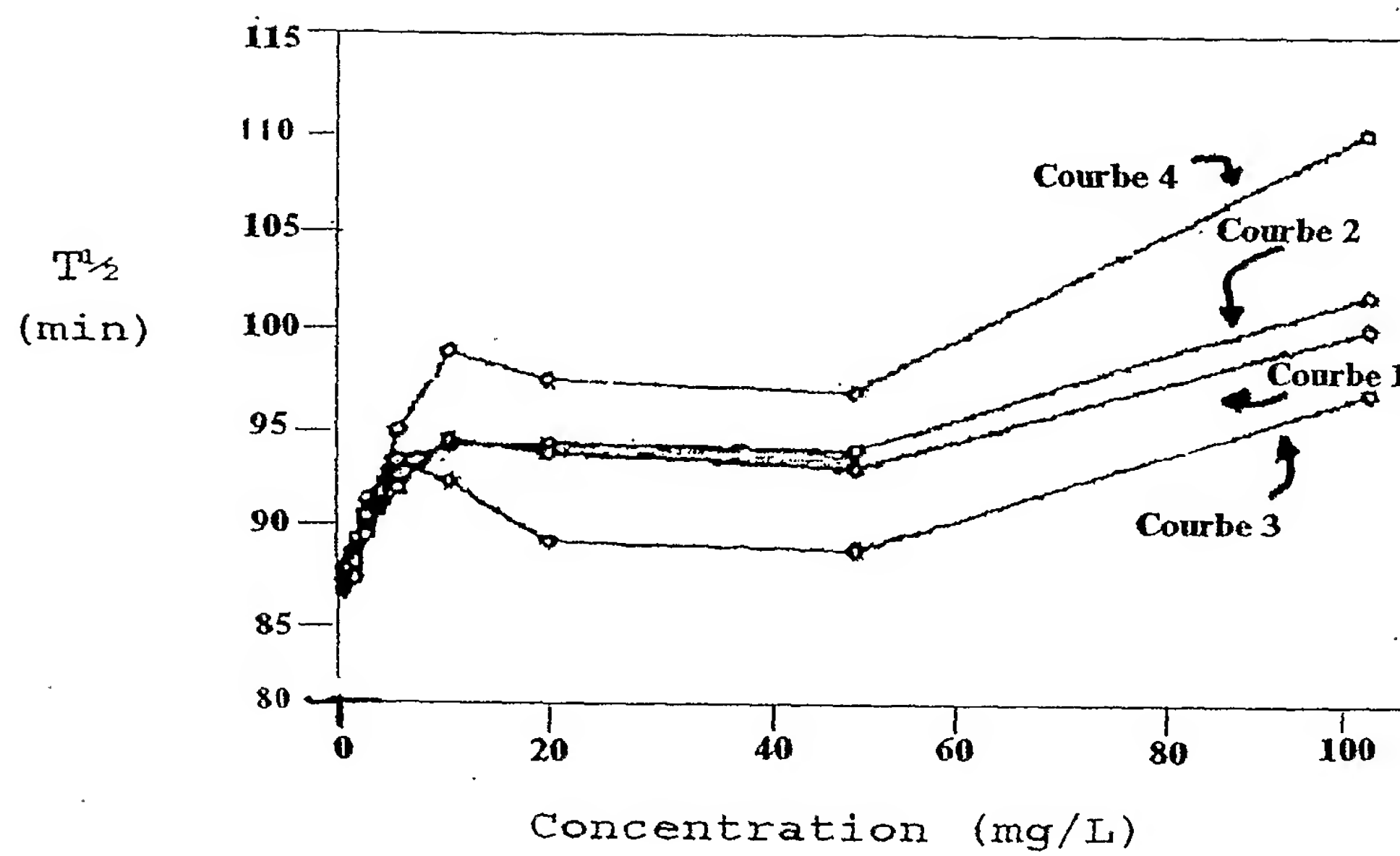


Fig 1

2/2

Fig. 2

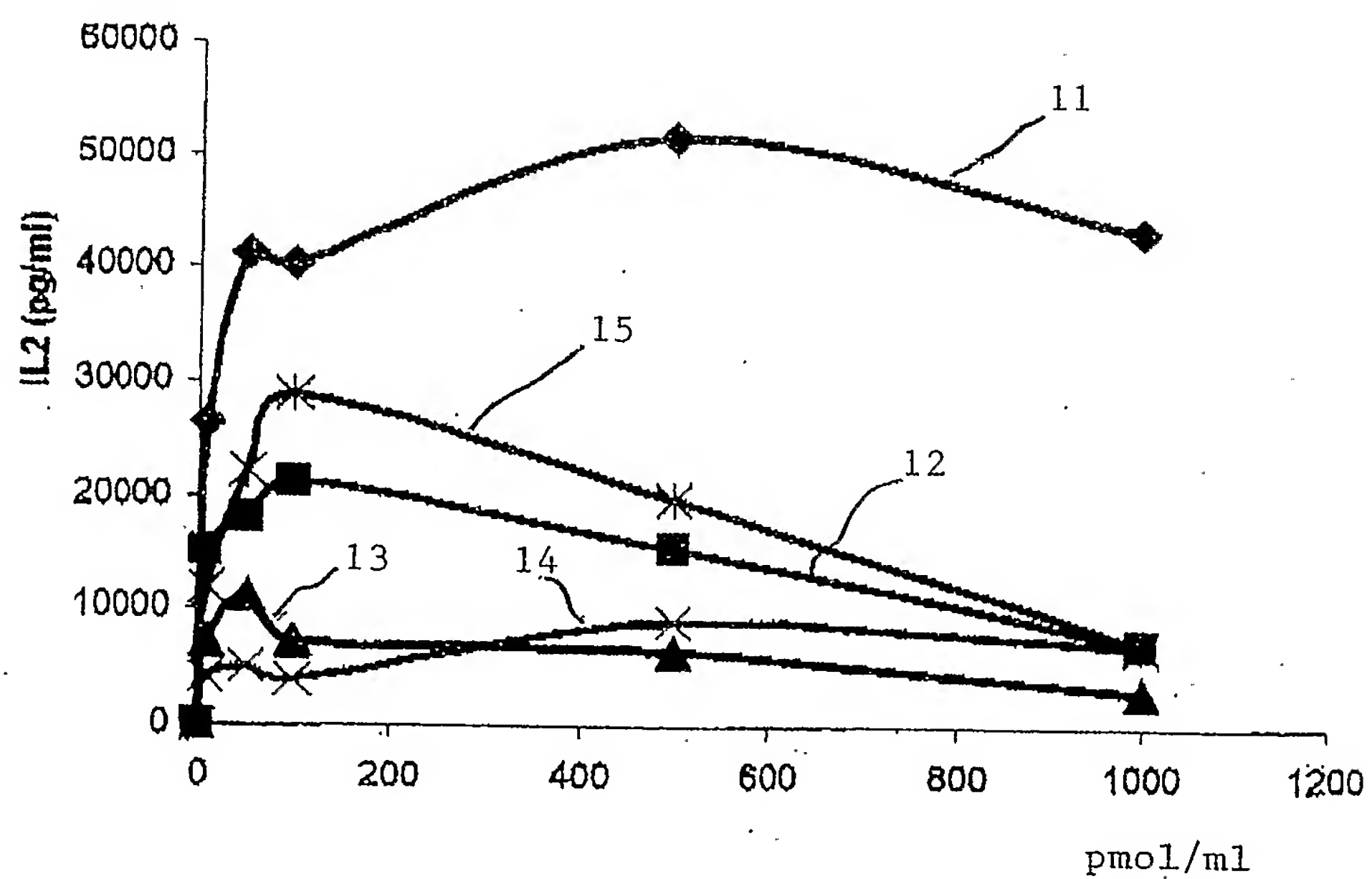
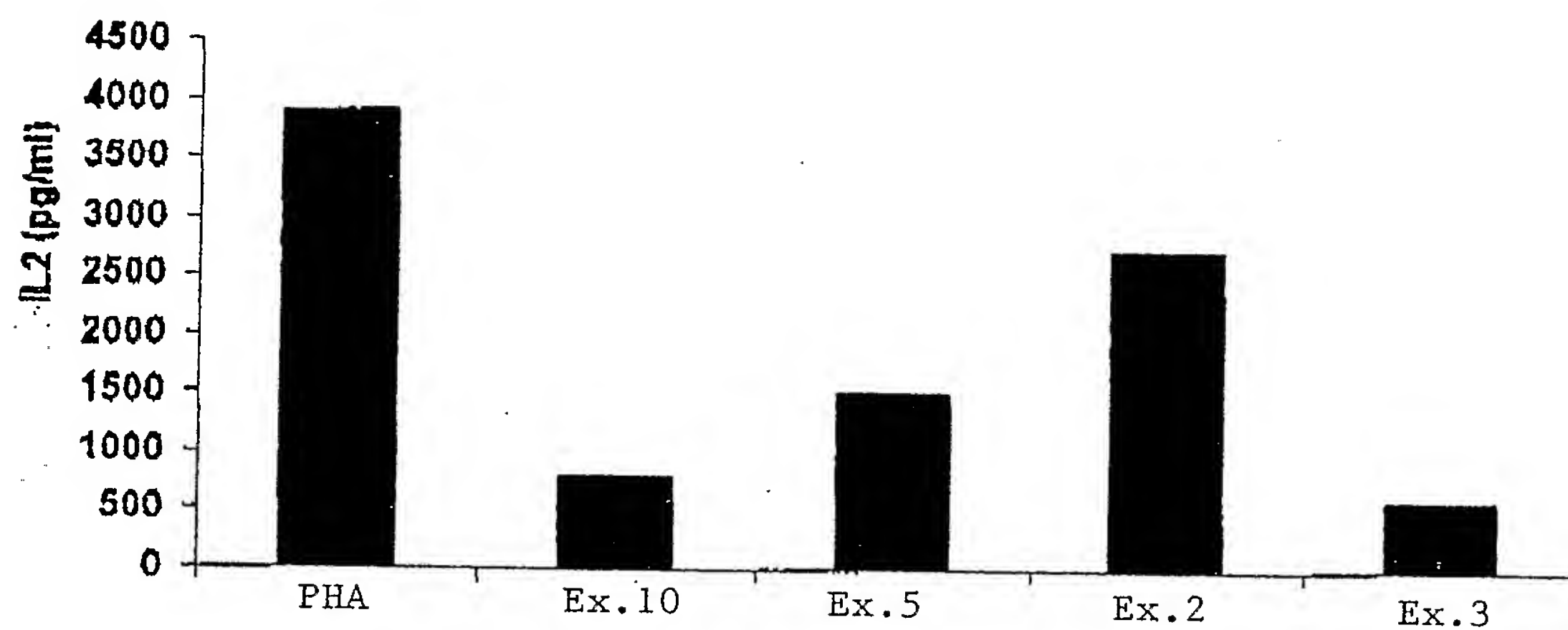


Fig. 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR2005/000596

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07H17/07 A61K7/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C07H A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 633 022 A (KUREHA CHEMICAL IND CO LTD) 11 January 1995 (1995-01-11) -----	
A	DEIANA M ET AL: "CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EXTRACTS FROM DAPHNE GNIDIUM L" JOURNAL OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. CHAMPAIGN, US, vol. 80, no. 1, 2003, pages 65-70, XP001183469 ISSN: 0003-021X -----	
A	WO 03/031430 A (PORTA AMALIA ; BRANE TECH S R L (IT)) 17 April 2003 (2003-04-17) -----	
A	FR 2 597 751 A (RAGOT JACQUELINE) 30 October 1987 (1987-10-30) cited in the application -----	

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 June 2005

Date of mailing of the international search report

14/06/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Klein, D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR2005/000596

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0633022	A	11-01-1995	JP 7025761 A	27-01-1995
			AU 659579 B2	18-05-1995
			AU 6733994 A	19-01-1995
			CA 2126513 A1	10-01-1995
			CN 1100633 A	29-03-1995
			DE 69401763 D1	27-03-1997
			DE 69401763 T2	28-08-1997
			EP 0633022 A2	11-01-1995
			EP 0719554 A1	03-07-1996
			US 5650433 A	22-07-1997
			US 6583118 B1	24-06-2003
<hr/>				
WO 03031430	A	17-04-2003	IT RM20010600 A1	04-04-2003
			CA 2462809 A1	17-04-2003
			WO 03031430 A2	17-04-2003
			EP 1438303 A2	21-07-2004
			US 2004266699 A1	30-12-2004
<hr/>				
FR 2597751	A	30-10-1987	FR 2597751 A1	30-10-1987
<hr/>				

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Déclaration Internationale No
PCT/FR2005/000596A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 C07H17/07 A61K7/48

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 7 C07H A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	EP 0 633 022 A (KUREHA CHEMICAL IND CO LTD) 11 janvier 1995 (1995-01-11) -----	
A	DEIANA M ET AL: "CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EXTRACTS FROM DAPHNE GNIDIUM L" JOURNAL OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. CHAMPAIGN, US, vol. 80, no. 1, 2003, pages 65-70, XP001183469 ISSN: 0003-021X -----	
A	WO 03/031430 A (PORTA AMALIA ; BRANE TECH S R L (IT)) 17 avril 2003 (2003-04-17) -----	
A	FR 2 597 751 A (RAGOT JACQUELINE) 30 octobre 1987 (1987-10-30) cité dans la demande -----	

☐ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

7 juin 2005

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

14/06/2005

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Klein, D

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dem... Internationale No
PCT/FR2005/000596

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0633022	A	11-01-1995	JP 7025761 A	27-01-1995
			AU 659579 B2	18-05-1995
			AU 6733994 A	19-01-1995
			CA 2126513 A1	10-01-1995
			CN 1100633 A	29-03-1995
			DE 69401763 D1	27-03-1997
			DE 69401763 T2	28-08-1997
			EP 0633022 A2	11-01-1995
			EP 0719554 A1	03-07-1996
			US 5650433 A	22-07-1997
			US 6583118 B1	24-06-2003
WO 03031430	A	17-04-2003	IT RM20010600 A1	04-04-2003
			CA 2462809 A1	17-04-2003
			WO 03031430 A2	17-04-2003
			EP 1438303 A2	21-07-2004
			US 2004266699 A1	30-12-2004
FR 2597751	A	30-10-1987	FR 2597751 A1	30-10-1987